

Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie
(Direktor: Prof. Dr. Klaus Eder)
des
Fachbereichs 09 Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und
Umweltmanagement
der
Justus-Liebig-Universität Gießen
(Dekan: Prof. Dr. Klaus Eder)

Einfluss von Insektenprotein auf den Lipidstoffwechsel bei Zuckerratten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. agr.)
im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und
Umweltmanagement der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
M. Sc. Annemarie Schulz geb. Schwarz

Giessen, 2023

Mit Genehmigung des Fachbereichs Agrarwissenschaften,
Ökotoxikologie und Umweltmanagement der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Prüfungskommission:

1.Gutachter: Prof. Dr. Klaus Eder

2.Gutachter: Prof. Dr. Uwe Wenzel

Prüfer: Prof. Dr.Robert Ringseis

Prüfer: Prof. Dr. Mathias Fasshauer

Vorsitzender: Prof. Dr. Gunter Eckert

Tag der Disputation: 16.10.2023

Teile der vorliegenden Arbeit wurden publiziert:

The Journal of Nutrition 2019, 149:566-577

Insect Meal as Alternative Protein Source Exerts Pronounced Lipid-Lowering Effects in Hyperlipdemic Obese Zucker Rats

Gessner, D.K., Schwarz, A., Meyer, S., Wen, G., Most, E., Zorn, H., Ringseis, R. und Eder, K.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Vorgänge des Lipid- und Cholesterinstoffwechsels auf molekularbiologischer Ebene	3
2.1.1 SREBP-Signalwege	3
2.1.2 Methionin-Homocystein-Glutathion-System	5
2.1.3 PPAR α -Signalweg	7
2.2 Derzeitige Tierproduktion	9
2.3 Insekten als alternative Proteinquelle	9
2.4 Verarbeitung von Insekten	12
2.5 <i>Tenebrio molitor L.</i> aus wissenschaftlicher Sicht	13
2.6 Kultivierung von <i>Tenebrio molitor L.</i>	14
2.7 Insekten aus ernährungsphysiologischer Sicht	15
2.8 <i>Tenebrio molitor L.</i> aus ernährungsphysiologischer Sicht	17
2.9 Chitin und dessen Auswirkungen auf den Stoffwechsel	17
2.10 Einsatz von Insekten in der Ernährung von Nutztieren	18
2.10.1 Einsatz von Insekten in der Aquakultur	18
2.10.2 Einsatz von Insekten bei Geflügel	19
2.10.3 Einsatz von Insekten bei Schwein und Rind	20
2.10.4 Einsatz von Insekten in der Heimtier- und Zootierfütterung	21
2.11 Einfluss von Proteinen auf den Lipidstoffwechsel	22
2.11.1 Einfluss des Proteingehaltes und der Proteinquelle auf den Lipidstoffwechsel	22
2.11.2 Einfluss von Sojaprotein auf den Lipidstoffwechsel	23
2.11.3 Einfluss von Lupinenprotein auf den Lipidstoffwechsel	23
2.12 Aktueller gesetzlicher Rahmen zum Einsatz von Insekten in der Lebens- und Futtermittelproduktion	24
3 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	26
4 Material und Methoden	28
4.1 Chemikalien	28
4.2 Geräte	30
4.3 Verbrauchsmaterialien	31
4.4 Puffer und Lösungen	32
4.5 Verwendete Reaktionssysteme (Kits)	34
4.6 Tiere und Tierhaltung	34

4.7 Diäten	35
4.8 Probennahme	40
4.9 Microarray und qPCR	41
4.9.1 RNA-Isolierung.....	41
4.9.2 RNA-Konzentrationsbestimmung.....	42
4.9.3 Bioanalyzer	42
4.9.4 cDNA-Synthese	42
4.9.5 Microarray.....	43
4.9.6 Auswertung des Microarrays	43
4.9.7 Quantitative Echtzeit-PCR (qPCR).....	44
4.9.8 Primerdesign und Normalisierung	45
4.9.9 Primereffizienz.....	46
4.9.10 DNA-Gelelektrophorese	52
4.10 Bestimmung der Triglycerid-Konzentrationen im Plasma und in der Leber	52
4.11 Bestimmung von Cholesterin im Plasma und in der Leber	53
4.12 Bestimmung von Homocystein im Plasma und in der Leber	53
4.13 Bestimmung von S-Adenosyl-Methionin, S-Adenosyl-Homocystein und Methionin in der Leber .	54
4.14 Bestimmung von Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin als Vorstufen von Carnitin im Plasma, der Leber und im <i>M. rectus femoris</i>	55
4.15 Metabolom-Analyse	56
4.16 Oil Red Färbung O der Leber.....	57
4.17 Quantifizierung von SREBP-1 und SREBP-2.....	57
4.17.1 Proteinextrakt RIPA.....	57
4.17.2 Bestimmung der Proteinkonzentration.....	58
4.17.3 SDS-Page	58
4.17.4 Blotting	59
4.18 Elektrophoretischer Mobilitäts Shift Assay (EMSA).....	61
4.18.1 Gewinnung der Nuklearfraktion	61
4.18.2 Hybridisierung und Markierung.....	62
4.18.3 Gelelektrophorese und Blotting	62
4.18.4 Detektion mittels Chemilumineszenz	63
4.19 Messung lipogener Enzym-Aktivitäten.....	63
4.19.1 Gewinnung der zytosolischen und mikrosomalen Fraktion aus der Leber	63
4.19.2 Messung der Glucose-6-phosphat Dehydrogenase-Aktivität.....	64
4.19.3 Messung der Fettsäuresynthese-Aktivität	65
4.19.4 Messung der 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase-Aktivität	66
4.20 Statistische Auswertung	66
5 Ergebnisse	68
5.1 Leistungsdaten.....	68
5.2 Triglycerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber	70

5.3	Histologische Schnitten der Leber (Oil Red O Färbung)	72
5.4	Einfluss von Insektenmehl auf das Genexpressionsprofil in der Leber	73
5.5	Genexpressionen ausgewählter SREBP-1 und SREBP-2 Zielgene in der Leber	79
5.6	Expressionen ausgewählter Gene der β -Oxidation und des Carnitin-Stoffwechsels in der Leber	81
5.7	Expressionen ausgewählter Gene des Homocystein-Stoffwechsels in der Leber	83
5.8	Expressionen ausgewählter Gene der Elongation und Desaturierung von Fettsäuren in der Leber	85
5.9	Relativen Proteinkonzentrationen von SREBP-1 und SREBP-2 in der Leber	87
5.10	PPAR α -Bindungsaktivität im nuklearen Leberextrakt	89
5.11	Aktivitäten lipogener Enzyme	90
5.12	Konzentrationen von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin in Plasma, Leber und <i>M. rectus femoris</i>	92
5.13	Konzentrationen von Homocystein, Cystein und Glutathion im Plasma	95
5.14	Konzentrationen von Homocystein, Cystein, Methionin, SAH und SAM in der Leber	96
5.15	Metabolit-Analyse im Plasma	98
5.15.1	Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma	98
5.15.2	Acylcarnitin-Konzentrationen im Plasma	100
5.15.4	Konzentrationen der individuellen Spezies von Phosphatidylcholin-, Lysophosphatidylcholin- und Sphingomyelin-Gehalt im Plasma	101
6	Diskussion	104
	Einfluss von Insektenmehl als Proteinquelle auf die Triglyzerid- und Cholesterin-Synthese in der Leber fettleibiger Zuckerratten	104
	Betrachtung der möglichen Beeinflussung der β -Oxidation auf reduzierte Triglyzerid-Konzentrationen in der Leber fettleibiger Zuckerratten	107
	Einfluss von Insektenmehl als Proteinquelle auf die Konzentrationen von Phosphatidylcholin, Lysophosphatidylcholin und Sphingomyelin im Plasma fettleibiger Zuckerratten	109
	Betrachtung einer möglichen Beeinflussung eines niedrigen Methioningehaltes im Insektenmehl auf Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber fettleibiger Zuckerratten	111
	Schlussfolgerung und Ausblick	114
7	Zusammenfassung	116
8	Summary	118
9	Literatur	120
	Ehrenwörtliche Erklärung	148
	Danksagung	149
	Anhang Microarray-Daten	X

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der SREBP-Reifung und Transkriptionsregulierung

Abbildung 2: Methionin-Homocystein-Glutathion-Stoffwechsel-System

Abbildung 3: Schematische Darstellung der PPAR α -induzierten Transkriptionsregulierung

Abbildung 4: Strategien zur Verwendung der kultivierten Insekten nach Veldkamp et al. 2012

Abbildung 5: Mögliche Verarbeitungsstrategien von Insekten aus der Massenzüchtung nach Veldkamp et al. 2012

Abbildung 6: Oil-Red O Färbung der Leber und Fotografien der Leber

Abbildung 7: Repräsentative Bilder der Immunoblots

Abbildung 8: Elektrophoretisches Mobilitäts Shift Assay (EMSA) des PPAR α /ACO-Komplexes

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1:** Rohprotein und Rohfettgehalt (auf TM-Basis) der Larven der Schwarzen Soldatenfliege, der Hausfliege und des Mehlkäfers im Vergleich mit Fischmehl und entfettetem Sojamehl
- Tabelle 2:** Gruppeneinteilung der Versuchstiere
- Tabelle 3:** Nährstoffe des verwendeten Insektenmehls
- Tabelle 4:** Zusammensetzung der Versuchsdäten
- Tabelle 5:** Aminosäuren-Gehalte in den Versuchsdäten
- Tabelle 6:** Mineralstoffmix
- Tabelle 7:** Vitaminmix
- Tabelle 8:** Zusammensetzung Mastermix für cDNA-Synthese
- Tabelle 9:** Zusammensetzung Mastermix für qPCR
- Tabelle 10:** Expressionsstabilität der verwendeten Referenzgene
- Tabelle 11:** Eigenschaften der verwendeten Primer der Referenzgene
- Tabelle 12:** Eigenschaften der verwendeten Primer der Zielgene
- Tabelle 13:** HPLC-Parameter der Bestimmung von Homocystein, Cystein und GSH
- Tabelle 14:** HPLC-Parameter der Bestimmung von Methionin, SAM und SAH
- Tabelle 15:** HPLC-Parameter der Bestimmung von Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin
- Tabelle 16:** Zusammensetzung des Trenngels
- Tabelle 17:** Zusammensetzung des Sammelgels
- Tabelle 18:** Verwendete Antikörper für den Western Blot
- Tabelle 19:** Eigenschaften der verwendeten Oligonukleotide des EMSA
- Tabelle 20:** Pipettierschema FAS-Aktivität
- Tabelle 21:** Wachstumsparameter von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält
- Tabelle 22:** Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält
- Tabelle 23:** Beeinflusste biologische Prozesse aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der hochregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Tabelle 24: Beeinflusste KEGG-Stoffwechselwege aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der hochregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Tabelle 25: Beeinflusste biologische Prozesse aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der herunterregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Tabelle 26: Beeinflusste KEGG-Stoffwechselwege aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der herunterregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Tabelle 27: Validierung des Microarrays mittels qPCR

Tabelle 28: Relative mRNA-Konzentrationen der SREPB-1 und SREPB-2-regulierten Gene und eines Gens der Gallensäurensynthese in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 29: Relative mRNA-Konzentrationen der Carnitin-Biosynthese und β -Oxidation regulierenden Genen in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 30: Relative mRNA-Konzentrationen des Methionin-Homocystein-Glutathion-System regulierende Gene in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 31: Relative mRNA-Konzentrationen de Elongation und Desaturierung von Fettsäuren regulierenden Genen in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 32: Relative Proteinkonzentrationen der Transkriptionsfaktoren SREBP-1 und SREBP-2 in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 33: G6PD-, FAS- und HMGCR-Aktivität in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 34: Konzentrationen von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin, gamma-Butyrobetaine and Trimethylsin im Plasma, in der Leber und im *M. rectus femoris* von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 35: Konzentrationen von Cystein, Homocystein und GSH im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 36: Konzentrationen von Cystein, Homocystein, Methionin, SAM, SAH and GSH in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 37: Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 38: Acylcarnitin-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 39: Phosphatidylcholin-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 40: Lysophosphatidylcholin-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Tabelle 41: Sphingomyelin-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) sowie fettleibigen Zuckerratten deren Diäten Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle enthält

Abkürzungsverzeichnis

ACACA	Acetyl-CoA Carboxylase- α
ACADL	Acyl-CoA Dehydrogenase, <i>long chain</i>
ACADM	Acyl-CoA Dehydrogenase, <i>medium chain</i>
ACADS	Acyl-CoA Dehydrogenase, <i>short chain</i>
ACLY	ATP-Citrat Lyase
ACO	Acyl-CoenzymA Oxidase
ACOT1	Acyl-CoA Thioesterase-1
ACOX1	Acyl-CoA Oxidase-1
ACOX2	Acyl-CoA Oxidase-2
ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
AHCY	Adenosylhomocysteinase
Ala	Alanin
ALDH9A1	<i>aldehyd dehydrogenase 9 family member A1</i>
Alpha-AAA	alpha-Aminoadipinsäure
APS	Ammoniumperoxydisulfat
Arg	Arginin
Asp	Asparagin
ASPN	Asporin
Asn	Asparaginsäure
BBOX1	gamma-Butyrobetain Hydroxylase-1
bHLH	<i>basic-helix-loop-leucin</i>
BHMT	Betain-Homocystein S-Methyltransferase
CACT	Carnitin-Acylcarnitin Translocase
CAR3	Carbonanhydrase-3
CBS	Cystation-beta-Synthase
cDNA	<i>complementary DNA</i>
CHDH	Cholin Dehydrogease
Cit	Citrullin
CPT1A	Carnitin Palmitoyltransferase-1a
C _t	<i>cycle threshold</i>
CTH	Cystathion-gamma-Lyase
CYP4A1	Cytochrome P450 4A1

CYP7A1	Cytochrom P450 7A1
DBD	<i>DNA binding domain</i>
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DMGDH	Dimethylglycin Dehydrogenase
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ELOVL5	<i>fatty acid elongase 5</i>
ELOVL6	<i>fatty acid elongase 6</i>
EMSA	electrophoretic mobility shift assay
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EU	Europäische Union
FADS1	<i>fatty acid desaturase 1</i>
FADS2	<i>fatty acid desaturase 2</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FAS	<i>fatty acid synthetase</i>
FATBP2	<i>fatty acid transport binding protein 2</i>
FC	<i>fold change</i>
G6PD	Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase
GAMT	Guanidinacetat N-Methyltransferase
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
GNMT	Glycin N-Methyltransferase
GPAM	Glycerol-3-Phosphat Acyltransferase
GPX	Glutathion Peroxidase
GSH	Glutathion
GSTM3	Glutathion S-Transferase mu 3
HAL	Histidin Ammonium Lyase
Hcy	Homocystein
His	Histidin
HMGCR	3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoenzymA Reduktase
HSD17B2	Hydroxysteroid 17-beta Dehydrogenase 2
Ile	Isoleucin

INSIG1	<i>insulin-induced gene 1 protein</i>
KEGG	<i>kyoto encyclopedia of genes and genomes</i>
LBD	<i>ligand binding domain</i>
LDLR	<i>low density lipoprotein rezeptor</i>
Leu	Leucin
LOC100360095	<i>urinary protein 1-like</i>
LPC	Lysophosphatidylcholin
LSS	Lanosterol Synthase
LXR α	<i>liver X rezeptor alpha</i>
Lys	Lysin
MAT1A	Methionin Adenosyltransferase 1A
Met	Methionin
Met-SO	Methioninsulfoxid
MHG	Methionin-Homocystein-Gltathion
mRNA	<i>messenger RNA</i>
MTR	5-Methyltetrahydrofolat-Homocystein Methyltransferase
MTRR	Methyltetrahydrofolat-Homocystein Methyltransferase Reduktase
MT1A	Methallthionin 1A
MT2A	Metallthionin 2A
MUP5	<i>major urinary protein 5</i>
NAFLD	<i>non-alcoholic fatty liver disease</i>
NR1H3	<i>nuclear rezeptor subfamily 1 group 3</i>
NSAID	<i>nonsteroidal antiinflammatory drugs</i>
NSP	Nicht-Stickstoff-Polysaccharide
OCTN2	<i>organic cation transporter 2</i>
Orn	Ornithin
PC	Phosphatidylcholin
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PDK4	Pyruvat Dehydrogenase Kinase-4
PEMT	Phosphatidylethanolamin N-Methyltransferase
Phe	Phenylalanin
PL	Phosphorlipid

PPAR	<i>peroxisom proliferator activating rezeptor</i>
PPRE	<i>peroxisom proliferator response element</i>
PRMT1	Protein Arginin Methyltransferase-1
Pro	Prolin
PSAT1	Phosphoserin Aminotransferase-2
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
RT	Raumtemperatur
RXR	<i>retinoid X rezeptor</i>
S1P	<i>site-1-protease</i>
S2P	<i>site-2-protease</i>
S100A11	<i>S100 calcium binding protein A11</i>
SAH	S-Adenosyl-Homocystein
SAM	S-Adenosyl-Methionin
SARDH	Sarcosin Dehydrogenase
SCAP	<i>SREBP cleavage-activating protein</i>
SCD2	Stearoyl-CoenzymA Desaturase-2
SDMA	symmetrisches Dimethylarginin
SDS	<i>sodium dodecyl sulfate</i>
Ser	Serin
SHMT1	Serin Hydroxymethyltransferase-1
SHMT2	Serin Hydroxymethyltransferase-2
SM	Sphingomyelin
SQLE	Squalen Epoxidase
SRE	<i>sterol regulatory element</i>
SREBP	<i>sterol regulatory element-binding protein</i>
TBS	<i>Tris-buffered saline</i>
TBST	TBS + Tween 20
TEMED	N,N,N'N'-Tetramethylethylendiamin
Thr	Threonin
TM	Trockenmasse
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
T4-OH-Pro	trans-4-Hydroxyprolin
UBD	Ubiquitin D

USTR5	Integral Membranprotein
Val	Valin
WHO	<i>World Health Organisation</i>
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein

1 Einleitung

Bis zum Jahr 2050 wird ein Wachstum der Weltbevölkerung auf zehn Milliarden Menschen, bei gleichzeitigem Verlust landwirtschaftlicher Flächen um bis zu 50% prognostiziert (Godfray et al., 2010). Die bereits heute knappen Flächen für die Futter- und Lebensmittelgewinnung konkurrieren zunehmend mit der Nutzung für nachwachsende Rohstoffe für die Industrie und die Energiegewinnung (Smith et al., 2010; Makkar et al., 2014). Das Bevölkerungswachstum sowie der gesteigerte Konsum tierischer Produkte führen zu einem erhöhten Bedarf an Fleisch und tierischen Produkten um bis zu 75% im Jahr 2050, im Vergleich zu 2012 (Steinfeld et al., 2006, Alexandratos und Bruinsma, 2012; Veldkamp et al., 2012). Bereits heute beansprucht die Tierproduktion rund 70% der landwirtschaftlichen Flächen weltweit (Steinfeld et al., 2006; Foley et al., 2011), 8% der weltweiten Süßwassernutzung (FAO, 2009; Foley et al., 2011) und produziert rund 15% der anthropogenen, gesamten Treibhausgasemissionen (Steinfeld et al., 2006). Um diesen Entwicklungen gerecht zu werden bedarf es neuer Strategien in der Produktion von Lebens- und Futtermitteln, um die Sicherung der Welternährung zu gewährleisten (Alexandratos und Bruinsma, 2012; Veldkamp et al., 2012; Tilman und Clark, 2014; van Huis, 2013). Als mögliche Strategien werden eine Reduzierung des Konsums an Fleisch, eine Steigerung der Effizienz der Lebensmittelkette und die Entwicklung neuartiger Futter- und Lebensmittel aus Insekten genannt (van Huis et al., 2015). Eine Reduzierung der fleisch-basierten Ernährung brächte ökologische, ökonomische und gesundheitliche Vorteile (Springmann et al., 2016). Insekten als Quelle für Futter- und Lebensmittel erscheinen als vielversprechende Alternative gegenüber der konventionellen Tierproduktion (DeFoliart, 1999; van Huis, 2013; Ramos-Eldorduy, 2006). Insekten sind wechselwarme Tiere und können auf organischen Nebenerzeugnissen produziert werden, wodurch ein vorteilhafter Futterumsatz zu Stande kommt (Veldkamp et al., 2012). Der Futterumsatz ist deutlich besser als der der konventionellen Tierproduktion, wodurch weniger Fläche für den Anbau der Futtermittel beansprucht wird (Nakagaki und DeFoliart, 1991; Yen, 2009; Oonicx et al., 2010). Lediglich 20% des Proteinfutters, welches in der Europäischen Union (EU) gefüttert wird, wächst auf europäischem Boden. Jährlich werden, außerhalb der EU 44 Milliarden Tonnen Soja, auf drei Millionen Hektar, produziert und in die EU importiert (Häusling, 2010). Die hohen Importe machen die EU abhängig von internationalen Importen von Soja und Fischmehl (de Visser et al., 2014). Für die Zukunft werden steigende Preise für Soja und Fischmehl vorausgesagt (Rana et al., 2009), eine größere Unabhängigkeit der EU ist anstrebenswert (de Visser et al., 2014).

Außerdem werden Nebenerzeugnisse aus der Industrie und Landwirtschaft ungenutzt entsorgt, aus denen Insekten hochwertiges Protein erzeugen könnten (Gustavsson et al., 2013). Weltweit sind rund 2000 essbare Insektenarten bekannt (Jongema, 2017; Churchward-Venne et al., 2017). Für eine industrielle Produktion von Insekten wurden drei Arten als besonders geeignet identifiziert, die schwarze Soldatenfliege (*Hermetia illucens*), die Hausfliege (*Musca domestica*) und der gelbe Mehlwurm (*Tenebrio molitor L.*). Diese drei Arten können theoretisch auf organischen Abfällen gezüchtet werden und sind damit in der Lage Kreisläufe zu schließen (Veldkamp et al., 2012; Veldkamp und Bosch, 2015). Der gelbe Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*) ist in Europa als Getreideschädling beheimatet. Die Züchtung der Larven des Mehlwurms ist einfach und sie wachsen gut auf pflanzlichen Substraten wie Früchten, Gemüse und Getreide (Ramos-Elorduy et al., 2002; Grau et al., 2017). Die Massenproduktion von Mehlwurmlarven ist möglich (Oonincx et al., 2012). Das Proteinprofil der Larven des Mehlkäfers ist hochwertig, sie stellen eine geeignete Quelle für alle essentielle Aminosäuren dar (Rumpold et al., 2014) und sind qualitativ vergleichbar mit Soja oder Fischmehl (Makkar et al., 2014). Der Einsatz von Insekten und Insektenmehlen in der Tierernährung zeigt keine Beeinträchtigung bzw. eine Verbesserung der Leistung in der Tierproduktion monogastrischer Nutztiere, wie Geflügel und Schwein, und im Einsatz in der Aquakultur (Wang et al., 2007; Cullere et al., 2016; Bisato et al., 2016; Bovera et al., 2016; Ji et al., 2016; Meyer et al. 2020b).

Auf der Suche nach neuartigen, alternativen Proteinquellen gilt es geeignete Proteinquellen zu identifizieren und diese vielseitig zu untersuchen, denn die Wirkungsweisen tragen erheblich zur Beurteilung einer Proteinquelle bei. Von großer Bedeutung ist die Aminosäuren-Zusammensetzung (Teles et al., 2011; Churchward-Venne et al. 2017). Ein geringer Methioningehalt, wie er in pflanzlichen Proteinquellen, wie Soja oder Lupinenprotein, vorkommt führt durch reduzierte Triglyzerid- und Cholesterinsynthese zu reduzierten Triglyzerid- und Cholesteringehalten in Plasma und Leber (Carroll, 1991; Bakhit et al., 1994; Anderson et al., 1995; Carrol und Kurowska, 1995; Sirtoni et al., 1998; Iritani et al., 1996; Potter et al., 1998; Wang et al., 1998; Koba et al., 2003; Zhan und Ho, 2005; Shukla et al., 2007). Die schwefelhaltige Aminosäure Methionin ist die limitierende Aminosäure von *Tenebrio molitor L.* als Proteinquelle (Ramos-Elorduy et al., 2002).

Die Wirkung von Insektenprotein auf den Lipidstoffwechsel ist zum derzeitigen Stand unerforscht und stellt die Grundlage dieser Dissertation dar. Aufgrund der Aminosäuren-Zusammensetzung und des geringen Methionin-Gehaltes wird dem Insektenprotein, hergestellt aus den Larven des Mehlwurms, eine dosisabhängige lipid- und cholesterinsenkende Wirkung postuliert.

2 Literaturübersicht

2.1 Vorgänge des Lipid- und Cholesterinstoffwechsels auf molekularbiologischer Ebene

Da der Fokus der Arbeit auf den Stoffwechselwegen des Lipid- und Cholesterinstoffwechsels lagen, sollen im Folgenden die hierfür relevanten Stoffwechselwege erläutert werden.

2.1.1 SREBP-Signalwege

Die Cholesterinsynthese ist zur Aufrechterhaltung des Cholesterinspiegels über ein Feedback-System reguliert, während die Fettsäurensynthese vornehmlich von der Verfügbarkeit von Kohlenhydraten und der Aktivität von Hormonen, wie Insulin, abhängig ist (Goodridge et al., 1987; Hillgartner et al., 1995). Beide biosynthetischen Stoffwechselwege werden durch Transkriptionsfaktoren einer Familie kontrolliert, den *sterol regulatory element binding proteins* (SREBPs) (Brown et al., 1997). Bei den SREBPs handelt es sich um Transkriptionsfaktoren, die eine direkte Expression von über 30 Genen aktivieren, welche Proteine kodieren, die in die Synthese von Triglyzeriden, Phospholipiden, Fettsäuren und Cholesterin sowie des Co-Faktors NADPH, in der Leber involviert sind (Horton et al., 2002). Das Säugergenom unterscheidet drei verschiedene Isoformen der SREBPs - SREBP-1a, SREBP-1c und SREBP-2. Alle gehören der Familie der *basic-helix-loop-leucine zipper* (bHLH-Zip) an (Yokoyama et al., 1993) und weisen eine Ähnlichkeit von 47% auf (Hua et al., 1993). SREBP-1a aktiviert alle SREBP-induzierten Gene, welche Fettsäuren-, Triglyzerid- und Cholesterin-Synthese kodieren (Horton et al., 2002). Durch unterschiedliches Spleißen unterscheiden sich die Transkript-Varianten SREBP-1a und SREBP-1c im ersten Exon (Brown und Goldstein, 1997). Die Regulierung von SREBP-1c und SREBP-2 ist spezifischer als die von SREBP-1a. SREBP-1c reguliert vor allem Gene, die die Fettsäuresynthese kodieren, während SREBP-2 Gene der Cholesterinsynthese reguliert (Brown und Goldstein, 1997). Zielgene des SREBP-1c sind unter anderem die Fettsäuresynthetase (*FAS*) und die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (*G6PD*). Zu den Zielgenen von SREBP-2 werden vor allem die HMG-CoA-Reduktase (*HMGCR*) und der LDL-Rezeptor (*LDR*) gezählt (Horton und Shimomura, 1999; Shimano et al., 2001; Horton et al., 2002). Die SREBPs werden als Vorstufen synthetisiert und liegen an die Membran des endoplasmatischen Reticulums (ER) gebunden vor (Horton et al., 2002). In einem zweistufigen, proteolytischen Prozess, innerhalb des Golgi-Apparates, wird die aminoterminal-bHLH-Zip-Domäne entlassen und das reife oder

nukleäre SREBP kann in den Zellkern gelangen und dort seine Zielgene, durch Bindung an das Sterol regulierende Element (*sterol regulatory element*, SRE) oder an die palindromische Sequenz (E-Box) innerhalb des Promoters, aktivieren (Wang et al., 1994; Sakai et al., 1996). Die proteolytische Spaltung wird auch als Reifung bezeichnet, in der das SREBP *cleavage-activating protein* (SCAP), die *site-1-protease* (S1P) und die *site-2-protease* (S2P) beteiligt sind (Shimano et al., 2001; Horton et al., 2002). SCAP ist für die Reifung der SREBPs erforderlich (Sakai et al., 1998; Rawson et al., 1997), da es als Sensor- und Eskortprotein dient (Shimano et al., 2001). SCAP eskortiert SREBP zum Golgi-Apparat, hier erfolgt die proteolytische Spaltung durch S1P und S2P (Nohtrufft et al., 1998). S1P spaltet zunächst den SCAP/SREBP-Komplex (Duncan et al., 1997), wodurch es der S2P ermöglicht wird, die bHLH-Zip-Domäne freizusetzen und das reife SREBP im Zellkern seine Zielgene aktivieren kann (Rawson et al. 1997). Die Regulierung erfolgt über ein Feedback-System. Ein intrazellulärer Anstieg der Sterolkonzentration hat eine Konformationsänderung des SCAPs zur Folge, welches dann mit membrangebundenen Proteinen der *Insulin induced genes* (INSIGs) interagieren kann und einen stabilen Komplex, gebunden an die Membran des ERs, bildet (Brown et al. 2002; Yang et al., 2002; Yabe et al. 2002). Sinkt die intrazelluläre Sterolkonzentration dissoziiert der SCAP/SREBP/INSIG-Komplex, woraufhin die zweistufige proteolytische Spaltung am Golgi-Apparat erfolgen kann (Nohtrufft et al., 2000; Espenshade et al. 2002; Sun et al., 2007). In Abbildung 1 ist die Reifung und die Transkriptionsregulierung der SREBPs nach Brown und Goldstein (2009) und Radharkrishnan et al. (2010) schematisch dargestellt.

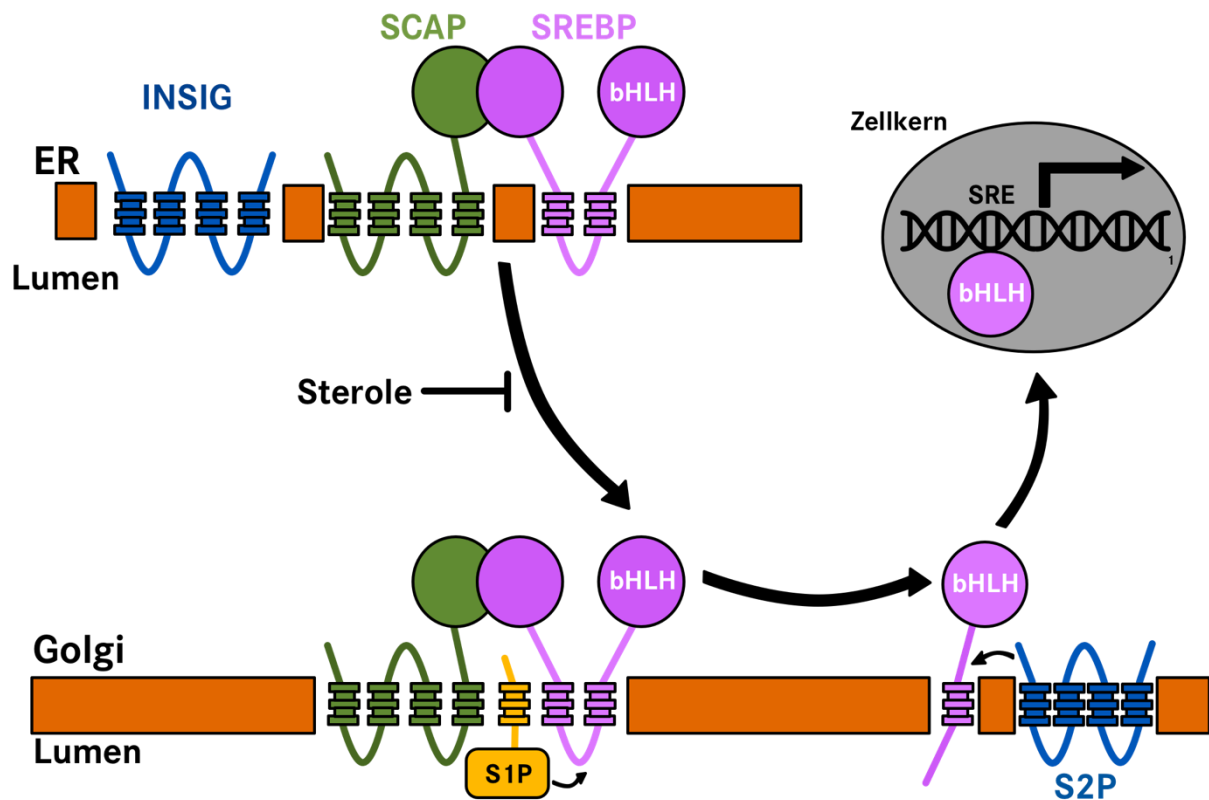


Abbildung 1: Schematische Darstellung der SREBP-Reifung und Transkriptionsregulierung modifiziert nach Brown und Goldstein (2009) und Radharkrishnan et al. (2010)

Abk.: *INSIG* = *Insulin induced genes*; *SREBP* = *sterol regulatory element binding protein*; *SRE* = *sterol regulatory element*; *SCAP* = *SREBP cleavage-activating protein*; *bHLH* = *basic-helix-loop-leucine*; *S1P* = *site-1-protease*; *S2P* = *site-2-protease*

2.1.2 Methionin-Homocystein-Glutathion-System

Homocystein (Hcy) ist ein Zwischenprodukt im Stoffwechsel der schwefelhaltigen Aminosäure Methionin und eine Vorstufe der schwefelhaltigen Aminosäure Cystein. Cystein selber hat Redox-Eigenschaften und dessen Synthese ist der limitierende Schritt in der antioxidativen Glutathionsynthese. Neben der Funktion der Redox- und Entgiftungseigenschaft hat das Methionin-Homocystein-Glutathion (MHG-) System eine vielfältige Bedeutung im Stoffwechsel. Nach Aktivierung von Methionin zum Methylgruppendonator S-Adenosyl-Methionin (SAM) können zahlreiche Verbindungen, wie Kreatin, Carnitin, Adrenalin, Noradrenalin, Cholin, Acetylcholin, Phosphatidylcholin oder Thymin synthetisiert werden (Selhub, 1999; Weiß, 2003). Der Abbau von Homocystein erfolgt entweder über Cystathionin

zu Cystein mit Hilfe des Vitamins B6-abhängigen Enzyms Cystathionin-Synthetase, unter Serin-Verbrauch oder durch Rückmethylierung zu Methionin über das Vitamin B12-abhängige Tetrahydrofolsäure-System (Weiß, 2003). Das Methionin-Homocystein-Glutathion-System ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

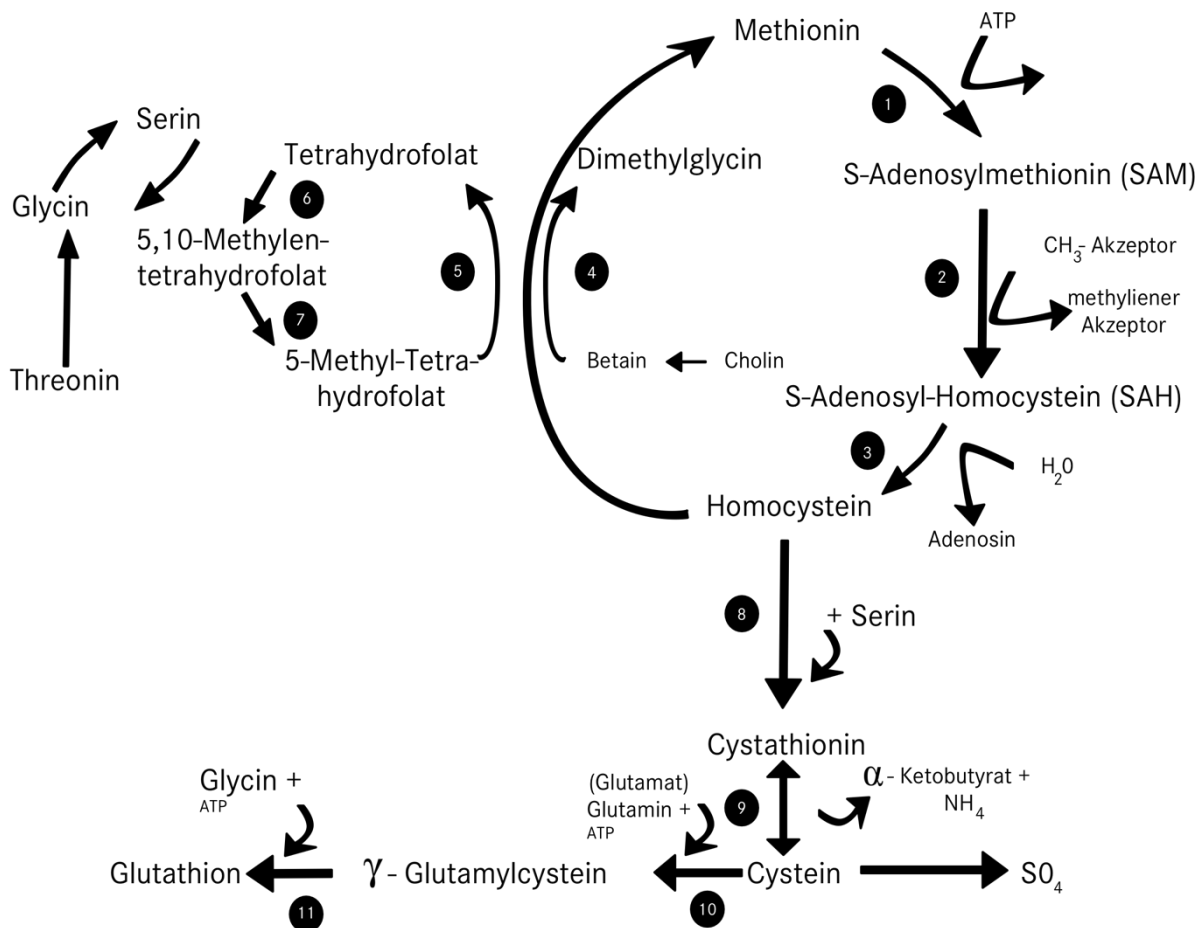


Abb. 2 Methionin-Homocystein-Glutathion-Stoffwechsel-System modifiziert nach Weiß 2003 mit folgenden Reaktionen:

1 = S-Adenosyl-L-Methionin-Synthetase, 2 = Transmethylierungsreaktion, 3 = S-Adenosyl-L-Homocystein-Hydrolase, 4 = Betain-Homocystein-Methyl-Transferase, 5 = Homocystein-Methyl-Transferase, 6 = Serin-Transhydroxymethylase, 7 = Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase, 8 = Cystathionin-β-Synthase, 9 = Gamma-Cystathionase, 10 = Glutamyl-Cystein-Synthetase, 11 = Glutathion-Synthetase

Eine hohe Methionin-Aufnahme ist als Risikofaktor für cardiovaskuläre Erkrankungen beim Menschen identifiziert worden (Virtanen et al., 2006). Darüber hinaus hat eine

Supplementierung der Aminosäure Methionin eine hyperlipidämische Wirkung (Hirche et al., 2006a + b). Dem gegenüber steht eine reduzierte Lipidsynthese in der Leber bei geringer Methionin-Aufnahme (Orentreich et al., 1993; Richie et al., 1994; Perrone et al., 2010). Der Fettstoffwechsel steht in Interaktion mit dem Methionin-Homocystein-Glutathion-Stoffwechsel-System (Werkstück et al., 2001). Bei erhöhter SAM-Produktion werden Phospholipide (PL) und Phosphatidylethanolamine (PE), über die PE N-Methyltransferase (PEMT) zu Phosphatidylcholine (PC) methyliert. SAM fungiert hier als Methylendonator (van der Veen et al., 2012).

2.1.3 PPAR α -Signalweg

Triglyzeride werden durch die hormon-regulierte Lipase in Glycerin und freie Fettsäuren gespalten. Die Fettsäuren werden durch Bindung an Coenzym A aktiviert und mittels β -Oxidation abgebaut (Stryer et al., 2007). Dieser Stoffwechselweg kann mittels des Transkriptionsfaktors Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor (PPAR) reguliert werden. PPARs sind Transkriptionsfaktoren und intrazelluläre Rezeptoren, zugehörig der Superfamilie der Kernrezeptoren (Desvergne und Wahli, 1999; Kersten et al., 2000; Evans et al., 2004; Ferré, 2004), welche eine Vielzahl von Genen regulieren, die im Abbau von Fettsäuren involviert sind. Es werden drei Untergruppen unterschieden – PPAR α , PPAR β/δ und PPAR γ (Ferré, 2004; Brown und Plutzky, 2007; Abbott, 2009; Rakhshandehroo et al., 2010; Contreras et al., 2013). PPAR α ist ubiquitär im Säugerorganismus zu finden, jedoch überwiegend in der Leber (Latruffe et al., 2000). In Niere, Herz und der Skelettmuskulatur kann ebenfalls eine erhöhte Exprimierung festgestellt werden (Braissant et al., 1996; Su et al., 1998). Im Jahre 1990 wurde PPAR α entdeckt und als Schlüsselregulator des Fettstoffwechsels in der Leber identifiziert (Issermann und Green, 1990; Rakhshandehroo et al., 2010). PPAR α ist verantwortlich für die Regulierung der β -Oxidation der Fettsäuren. Diese ist bei der Ratte besonders ausgeprägt (Nakamura et al., 2014). Die PPARs sind aus einer C-terminalen, Ligand abhängiger, Aktivierungsdomäne (*ligand binding domain*, LBD), einer DNA-Bindungsdomäne (*DNA binding domain*, DBD) und einer N-terminalen, Ligand unabhängiger, Transaktivierungsdomäne zusammengesetzt. Die DNA-Bindungsdomäne trägt zwei Zinkfinger (Berger und Moller, 2002; Ferré, 2004).

Die PPAR-Aktivierung erfolgt durch die Bindung eines Liganden, wodurch eine Konformationsänderung hervorgerufen wird. Unter Rekrutierung von Co-Aktivatoren und der Freisetzung von Co-Inhibitoren, folgt eine Heterodimerisierung mit dem Retinsäure-X-

Rezeptor (RXR), welcher an definierte DNA-Konsensussequenzen (*peroxisome proliferator response element*, PPRE) im Bereich des Promotors der Zielgene bindet und deren Expression erfolgt (Wahli et al. 1995; Ferré, 2004; Rakhshandehroo et al., 2010; Contreras et al., 2013). Als natürliche Liganden der PPARs gelten Fettsäuren und Eicosanoide (Gottlicher et al., 1992, Yu et al., 1995, Forman et al., 1997, Kliewer et al., 1997). Fibrate sind die Salze der Fibrinsäure und deren Abkömmlinge und stellen pharmakologische Liganden für PPAR α dar (Wilson et al. 2000, Berger und Moller 2002). Fibrate werden häufig als hypolipidämische Medikamente zur Behandlung von Fettstoffwechselstörungen eingesetzt (Staels et al., 1998; Desvergne und Wahli, 1999; Peraza et al. 2006). *Non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAIDs) sind als synthetische Liganden für PPAR α und γ bekannt (Lehmann et al., 1997).

In Abbildung 3 ist die Aktivierung der PPAR-regulierten Zielgene schematisch nach Grygiel-Górniak (2014) dargestellt.

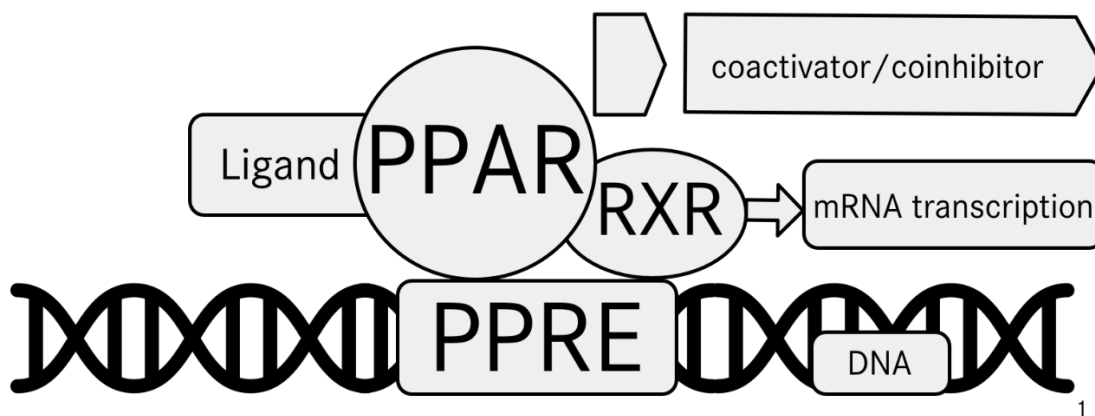


Abbildung 3: Schematische Darstellung der PPAR α -induzierten Transkriptionsregulierung modifiziert nach Grygiel-Górniak (2014)

Abk.: PPAR = Peroxisome Proliferator aktivierter Rezeptor alpha; RXR = Retinsäure-X-Rezeptor; PPRE = Peroxisome Proliferator Response Element

PPAR α reguliert vornehmlich mitochondriale β -Oxidation-aktivierende Gene, wie die Acyl-CoA Oxidase (ACOX), die zelluläre Fettsäure-Aufnahme durch Fettsäure-bindende Transportproteine (FABPs) und den Fettsäure-Transport (Kota et al., 2005). Darüber hinaus stimuliert PPAR α Gene des Carnitin-Stoffwechsels, welcher für den Fettstoffwechsel obligatorisch ist (Wahli et al., 1995; Strijbis et al., 2010; Eder und Ringseis, 2010; Latruffe und Vamecq, 1997). Sowohl Pharmazeutika, als auch Nahrungsinhaltsstoffe können PPAR α und

dessen Zielgene aktivieren (Contreras et al., 2013). Mezei et al. (2003) konnten eine Aktivierung des PPAR α durch Sojaprotein bei Zuckerratten nachweisen (Mezei et al., 2003).

2.2 Derzeitige Tierproduktion

Die derzeitige Tierproduktion ist ressourcenzerrend. 30% der eisfreien Oberfläche weltweit oder 75% der Ackerflächen werden zur Produktion von Futtermitteln für die Tierproduktion beansprucht. 8% des weltweit verbrauchten Wassers wird für die Tierproduktion benötigt, hier vor allem für die Bewässerung der angebauten Futtermittel (Steinfeld et al., 2006; Foley et al., 2011). Zusätzlich werden 14,5% der anthropogenen Treibhausgase durch die Nutztierhaltung und die Produktion tierischer Produkte verursacht (Steinfeld et al. 2006; Gerber et al., 2013) und ist damit einer der Verursacher der globalen Erderwärmung (Godfray et al., 2011). Generell haben tierische Produkte einen größeren Wasser-Fußabdruck als pflanzliche Futter- und Lebensmittel (Mekonnen und Hoekstra, 2012). Seit der BSE-Krise in den 90er Jahren, des vergangenen Jahrhunderts, dürfen in der EU keine Futtermittel tierischen Ursprungs an Nutztiere, die Lebensmittelgewinnung dienen, verfüttert werden. Fischmehl stellt eine Ausnahme dar. In der Ernährung von Nicht-Wiederkäuern, wie Schwein und Geflügel sowie in der Fütterung von Nutzfischen, ist der Einsatz von Fischmehl erlaubt, jedoch nicht für die Fütterung ruminierender Nutztiere. Häufig werden somit Sojabohnen sowie deren Produkte und Fischmehl und –öl in der Fütterung von Nutztieren in der EU eingesetzt (Veldkamp et al., 2012). Die Preise für Fischmehl und Soja sind in den vergangenen Dekaden beträchtlich gestiegen. Die Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) sagt einen weiteren Anstieg dieser Futtermittel voraus, was die Erforschung alternativer Proteinquelle aus ökonomischer Sicht erforderlich macht, damit Lebensmittel für den Konsumenten erschwinglich bleiben (Veldkamp et al., 2012).

2.3 Insekten als alternative Proteinquelle

Für etwa zwei Milliarden Menschen in Asien, Afrika und Lateinamerika gehören Insekten seit Jahrhunderten auf den Speiseplan (Bukkens, 1997; FAO, 2011; MacEvilly, 2000). Weltweit sind über 2000 essbare Insektenarten bekannt (Jongema, Y., 2015; Churchward-Venne et al., 2017).

Um der künftigen Herausforderung der Sicherung der Welternährung gerecht zu werden, werden alternative Proteinquellen gesucht und untersucht. Insekten stellen eine attraktive,

alternative Proteinquelle dar (van Huis et al., 2013). Insekten wachsen schnell und deren Reproduktion gestaltet sich einfach. Aufgrund der Eigenschaft, dass sie wechselwarm sind, ergibt sich ein günstiger Futterumsatz. Theoretisch kann ein Kilogramm Insekten aus zwei Kilogramm Biomasse erzeugt werden. Als Futtersubstrat könnten theoretisch Bioabfälle oder landwirtschaftliche Nebenerzeugnisse verwendet werden (Collavo et al., 2005), wodurch ein geringerer Einsatz von Bioressourcen von Nöten ist und damit die Produktion von Insekten nicht mit der Produktion von Lebensmitteln konkurriert und im Idealfall Kreisläufe geschlossen werden (Veldkamp et al., 2012; Sanchez-Muros et al., 2015). Ein weiterer Vorteil ist, dass weniger Kohlendioxid, im Vergleich mit der konventionellen Tierproduktion, insbesondere im Vergleich mit Rindern, erzeugt wird (Churchward-Venne et al., 2017).

Veldkamp et al. (2012) untersuchten in einer Machbarkeitsstudie den möglichen Einsatz von Insekten für die Gewinnung von Futter- und Lebensmitteln. Zahlreiche Vorteile einer Massenproduktion und dem Einsatz von Insekten in der Futter- und Lebensmittelgewinnung wurden bereits genannt. Großes ökonomisches Potential liegt in der Möglichkeit Produktionsreisläufe von Futter- und Lebensmitteln mit der Züchtung von Insekten zu schließen (Veldkamp et al., 2012). Die zirkulierende Futter- und Lebensmittelproduktion ist in der Abbildung 4 schematisch dargestellt. Im Mittelpunkt dieser Strategie stehen Insekten, als bisher fehlendes Element zur Schließung des Kreislaufes in der Futter- und Lebensmittelherstellung (Veldkamp et al., 2012).

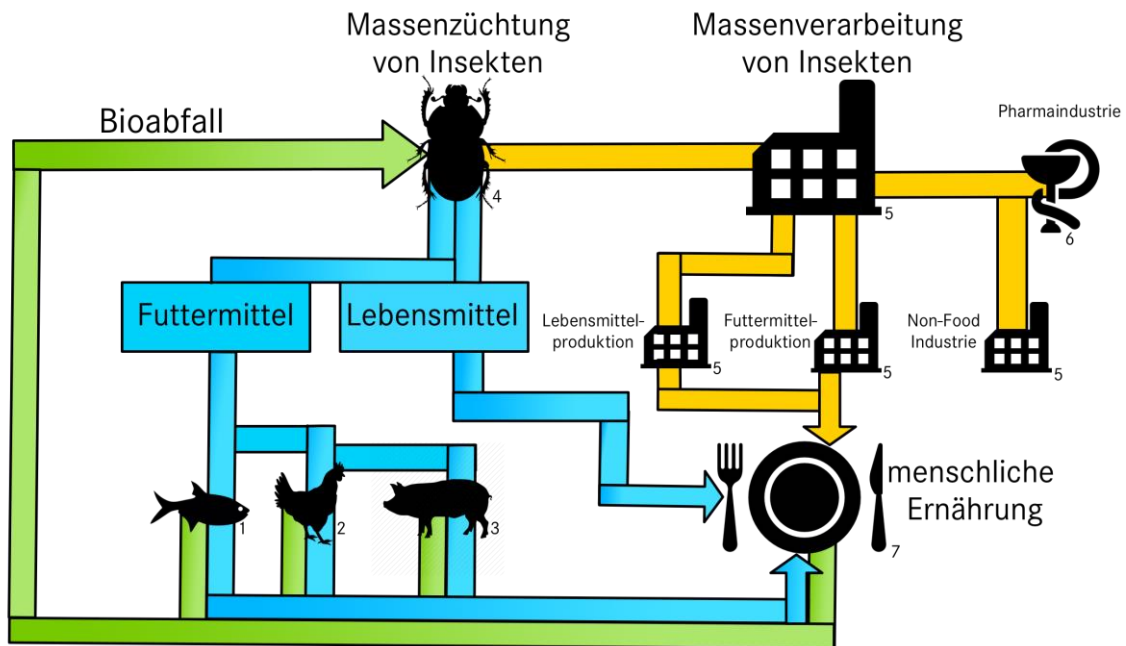


Abb. 4: Strategien zur Verwendung der kultivierten Insekten nach Veldkamp et al. (2012)

Bildquellen:

¹https://de.freepik.com/freie-ikonen/fisch-silhouette_741113.htm;

² <https://www.pinterest.de/pin/44332377560775301>;

³ <https://www.pinterest.de/pin/189221621817479717/>⁴ <https://pixabay.com/de/vectors/käfer-insekt-tier-silhouette-309690/>; ⁵ https://de.freepik.com/freie-ikonen/fabrikgebäude-silhouette_721363.htm;

⁶ https://www.freepik.com/free-icon/pharmacy-icon_776714.htm; ⁷

Neben der schematischen Darstellung, der Strategie für die Verwendung von Insekten in der Futter- und Lebensmittelproduktion, erstellten Veldkamp et al. (2012) eine Wertschöpfungskette zur Nutzung von Insekten als Futter- und Lebensmittel. Die Wertschöpfungskette beginnt mit Biomüll bzw. landwirtschaftlicher Nebenerzeugnisse, auf denen die Insekten gezüchtet werden können. Nach Verarbeitung der Insekten und Herstellung des insektenenthaltenden Futtermittels findet sich die Anwendung als Futtermittel in der monogastrischen Nutztierernährung (Veldkamp et al., 2012).

Makkar et al. (2014) verglichen in ihrer Studie fünf große Insektengruppen auf deren Eigenschaften und einer möglichen Verwendung als Futtermittel für verschiedene Nutztiere. Betrachtet wurden in dieser Untersuchung die schwarze Soldatenfliege (*Hermetia illucens*), die Hausfliege (*Musca domestica*), der Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*), der Seidenwurm (*Bromyx mori*) und die Ordnung der Heuschrecken (*Orthoptera*). Die Verträglichkeit aller untersuchten Insektengruppen ist für Tiere gut und es ist eine Substitution von 25-100%, abhängig von der

Spezies, von Soja- und Fischmehl in der Ration möglich (Makkar et al., 2014). Mit Ausnahme des Mehls von Seidenwurm-Larven, haben Insekten meist geringe Konzentrationen an Methionin. Die Supplementierung dieser Aminosäuren kann die tierische Leistung verbessern und Austauschrate von Soja- und Fischmehl in der Ration erhöhen. Wie auch in Soja-basierten Rationen kann eine Methionin-Supplementierung erforderlich sein (Makkar et al. 2014).

2.4 Verarbeitung von Insekten

Für die Eignung als Futtermittel ist vor allem die Rohprotein-Fraktion von großer Bedeutung. Durch die Fraktionierung, insbesondere die Entfettung, der kultivierten Insekten kann ein proteinangereichertes Konzentrat erzeugt werden. Analog der Sojamehl-Herstellung kann die Fettfraktion anderweitige Verwendung finden. Auch in Hinblick auf eine Konservierung des erzeugten Proteinkonzentrates ist der Prozess der Entfettung sinnvoll, da die Fettfraktion der Insekten reich an ungesättigten Fettsäuren ist und somit rasch oxidiert. Auch ein Zusatz von Antioxidantien erscheint sinnvoll (Veldkamp et al., 2012). In Abbildung 5 sind zwei mögliche Strategien zur Verarbeitung von Insekten als Futtermittel nach Veldkamp et al. (2012) dargestellt. Der erste Weg der Verarbeitung zeigt die Herstellung eines Insektenmehls aus den ganzen Insekten, während im zweiten Weg die genannte Fraktionierung der Insekten gezeigt ist. Mögliche Fraktionen sind die Fett- und die Chitinfraktionen sowie lösliche und unlösliche Proteine (Veldkamp et al. 2012).

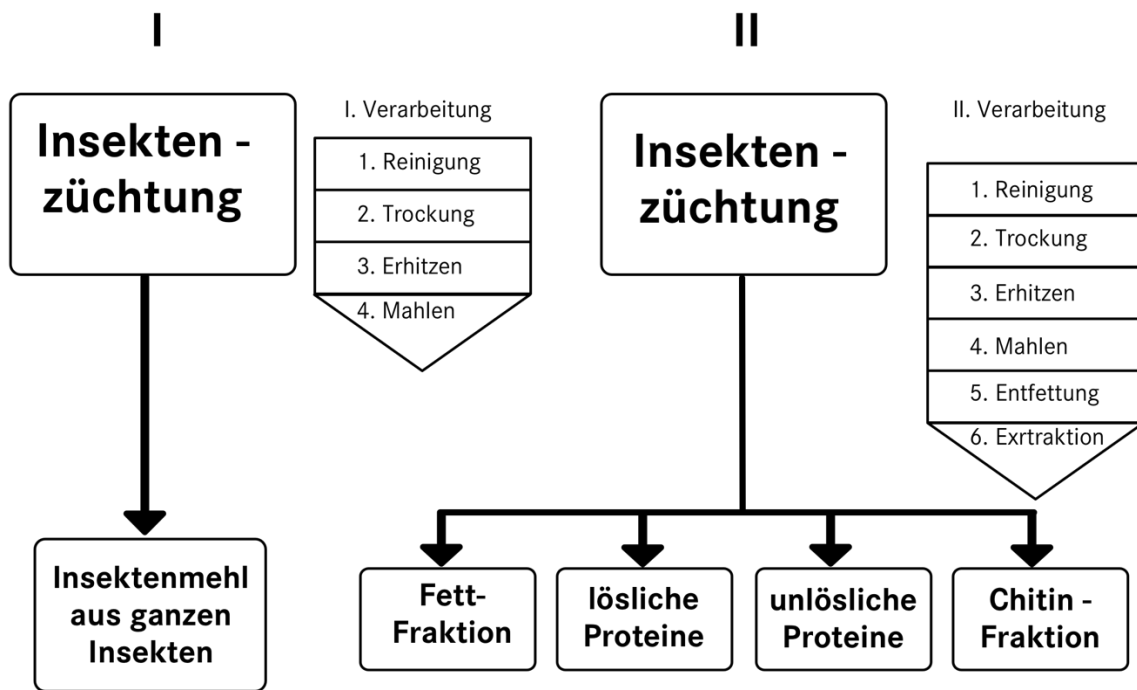


Abb. 5: Mögliche Verarbeitungsstrategien von Insekten aus der Massenzüchtung nach Veldkamp et al. 2012

2.5 *Tenebrio molitor L.* aus wissenschaftlicher Sicht

Die Larven des gelben Mehlkäfers (*Tenebrio molitor L.*), häufig als Mehlwürmer bezeichnet, finden bereits seit einiger Zeit Anwendung in der Fütterung von Heim- und Zootieren und sind eine vielversprechende alternative Proteinquelle (Finke, 2002; van Huis, 2013; Grau et al., 2017). Nicht nur in der Anwendung als Futtermittel sind Mehlwürmer eine geeignete Proteinquelle, auch für die menschliche Ernährung stellen diese eine attraktive Proteinquelle dar. So zeigten Li et al. (2011, 2015) einen möglichen Einsatz der Larven des Mehlkäfers als biogeneratives System in der Raumfahrt. *Tenebrio molitor L.* ist ein breit erforschtes System in der Untersuchung angeborener Immunitäten (Chae et al., 2012; Johnston et al., 2014). Liu und Wang veröffentlichten 2014 das komplette mitochondriale Genom des gelben Mehlkäfers (Liu und Wang, 2014). Damit stellt die Wissenschaft ein, im Vergleich zu anderen essbaren Insektenarten, breites Hintergrundwissen über *Tenebrio molitor L.* zur Verfügung (Grau et al., 2017). Grau et al. (2017) untersuchten eine nachhaltige Produktion des Mehlkäfers als Futter- und Lebensmittel. Der Fokus der Arbeit lag auf der Untersuchung einer möglichen Kontaminierung der Futter- und Lebensmittel durch Bakterien aus dem Magen-Darm-Trakt der Mehlwürmer und dem Risiko durch den Befall von Pathogenen und Parasiten. Die Haltbarkeit und die mikrobielle Belastung in Futter- und Lebensmitteln sind abhängig von den eingesetzten

Produkten (Bell, 1999). Bei der Etablierung neuer Futter- und Lebensmittel ist es wichtig, Fehler aus der Vergangenheit zu vermeiden und auf Antibiotika und andere pharmazeutische Stoffe bei der Züchtung von Insekten zu verzichten, dennoch muss der gleiche Standard erreicht werden (Grau et al., 2017). Grau et al. (2017) empfehlen den Einsatz von Probiotika und transgenerationales Immunpriming für eine sterile Massenproduktion von Insekten (Grau et al., 2017).

2.6 Kultivierung von *Tenebrio molitor* L.

Der Mehlkäfer (*Tenebrio molitor* L.) ist in Europa beheimatet und auf der gesamten Erde zu finden. Es ist ein Schädling für Getreide, Mehl und gelagerte Lebensmittel (Ramos-Elorduy et al., 2002). Die Züchtung der Mehlkäfer gestaltet sich einfach (Ghaly und Alkoaik, 2009) und aufgrund des Aminosäuren-Profiles, finden die Larven des Mehlkäfers Anwendung in der Fütterung von Zoo- und Heimtieren, wie Vögel, Reptilien, kleine Säugetiere, Amphibien und Fische. Die Fütterung erfolgt lebend, getrocknet oder in Pulverform (Aguilar-Miranda et al. 2002; Veldkamp et al., 2012). Die Produktion von Insekten für den Heimtierbedarf findet derzeit meist noch nicht in Massenproduktion statt (Veldkamp et al., 2012). Der Lebenszyklus des Mehlwurms variiert von 280 bis 630 Tage. Nach 10-12 Tagen und bei 18-20°C schlüpfen die Larven und durchlaufen verschiedene Stadien. Das Larvenstadium dauert typischerweise drei bis vier Monate, kann jedoch bis zu 18 Monate hinausgezögert werden. Durch den Einsatz von Hormonen kann die Häutung verhindert werden und eine Larvenlänge von bis zu 2 cm erreicht werden (Finke, 2002).

Mehlwürmer sind omnivor und können somit auf jeder Art pflanzlichen Materials und auf Substraten tierischer Natur, wie Fleisch oder Federn, gezüchtet werden (Ramos-Elorduy et al., 2002). Mit einer geringen Feuchtigkeit im Substrat können Mehlwürmer gut umgehen, jedoch erhöht die Zugabe von Wasser die Produktivität und beugt Kannibalismus vor. Feuchte Substrate, wie Karotten und Kartoffeln, bergen allerdings die Gefahr der Schimmelbildung (Hardouin und Mahoux, 2003). Typischerweise werden Mehlwürmer auf Getreide, wie Weizen, Hafer oder Mais, gezüchtet (Ramos-Elorduy et al., 2002). Pflanzliche Abfallprodukte, mit geringer Qualität können theoretisch durch Mehlwürmer, in protein- und fettreiches Futter recycelt werden (Hornung, 1991). Die Larven des Mehlkäfers (*Tenebrio molitor* L.) sind eine geeignete Insektenart für eine Massenproduktion (Ononincx et al., 2012).

2.7 Insekten aus ernährungsphysiologischer Sicht

Aus ernährungsphysiologischer Sicht stellen Insekten eine hochwertige Nahrungsquelle dar (WHO, 2007; Nowak et al., 2014). Die Zusammensetzung von Insekten variiert und ist abhängig von der Art und dem Entwicklungsstadium (Sanchez-Muros et al., 2014). Insekten bestehen zu 30-70% (auf Basis der Trockenmasse) aus Protein (Veldkamp et al. 2012). Veldkamp et al. (2012) stellten in ihrer Machbarkeitsstudie über die Verwendung von Insekten in den Diäten von Schweinen und Geflügel den Rohprotein- und Rohfettgehalt der Larven der Schwarzen Soldatenfliege (*Hermetia illucens*), der Larven der Hausfliege (*Musca domestica*) und der Mehlwurmlarven (*Tenebrio molitor L.*) dem Gehalt von Rohprotein und Rohfett von entfettetem Sojamehl und Fischmehl gegenüber. Der Rohproteingehalt der Insekten ist demnach vergleichbar mit dem Rohproteingehalt entfettetem Sojamehl (Veldkamp et al., 2012). Khusro et al. (2012) schätzen die Proteinqualität bzw. die Aminosäuren-Zusammensetzung von Insekten, abhängig von der betrachteten Spezies, meist besser ein, als von pflanzlichen Proteinquellen. Der Vergleich der Studie von Veldkamp et al. (2012) ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Rohprotein (XP) und Rohfettgehalt (XL) (auf TM-Basis) der Larven der Schwarzen Soldatenfliege, der Hausfliege und des Mehlkäfers im Vergleich mit Fischmehl und entfettetem Sojamehl

Proteinquelle	XP (%)	XL (%)
<i>Hermetia illucens</i>	35-57	35
<i>Musca domestica</i>	43-68	4-32
<i>Tenebrio molitor L.</i>	44-69	23-47
Fischmehl	61-77	11-17
Sojamehl (entfettet)	49-56	3

nach Veldkamp et al., 2012

Chruchward-Venne et al. (2017) stellten in ihren Bericht ebenfalls ein breites Spektrum des Proteingehaltes in verschiedenen Insekten zusammen. Die Ordnung der *Isoptera* zeigte Proteingehalte von $40\% \pm 14\%$ auf Basis der Trockenmasse und die Ordnung der *Blattodea* wies Proteingehalte von $64\% \pm 20\%$ auf Basis der Trockenmasse auf. Innerhalb einer Ordnung zeigten sich große Varianzen, beispielsweise wies die Spezies *Melanoplus mexicanus* einen Proteingehalt von 77% (Ramos-Elorduy et al.1998) und die Spezies *Brachytrupes spp* einen Proteingehalt von 6% (Banjo et al. 2006). Beide Spezies gehören der Ordnung *Orthoptera* an,

welche einen durchschnittlichen Proteingehalt von 60,2% zeigte (Churchward-Venne et al. 2017). Die Diät der Insekten, das Entwicklungsstadium (Eier, Larven, Puppen oder adulte Tiere) und die Analyse beeinflussen den Proteingehalt der Insekten (Churchward-Venne et al. 2017). Bei der Analyse können beispielsweise nur die essbaren Teile eines Insektes berücksichtigt werden (Nowak et al. 2016). Die häufig verwendete Kjeldahl-Methode zur Bestimmung des Proteingehaltes misst den Stickstoffgehalt und der Proteingehalt wird rechnerisch über den Faktor 6,25 ermittelt. Das im Exoskelett der Insekten enthaltene Chitin enthält ebenfalls Stickstoff und verfälscht so die Proteinbestimmung (Churchward-Venne et al. 2017). Insekten, welche mit Kleie anstatt Mais gefüttert wurden wiesen einen doppelt so hohen Proteingehalt auf (Van Huis, 2013). Churchward-Venne et al. (2017) verglichen den Proteingehalt der Insekten insgesamt mit dem Gehalt hochwertiger, tierischer und pflanzlicher Lebensmittel wie Fleisch, Eier, Milch oder Soja.

Die Proteinmenge ausschließlich ist nicht ausschlaggebend für die Deckung des Bedarfs von Mensch und Tier, entscheidend ist die Deckung des Bedarfs an essentiellen Aminosäuren, in Abhängigkeit vom Alter und der physiologischen Kondition, wie Wachstum, Gravidität oder Laktation (Teles et al., 2011; Churchward-Venne et al. 2017), daher gibt vor allem die Zusammensetzung einer Proteinquelle hinsichtlich essentieller und nicht essentieller Aminosäuren Aufschluss über die Qualität der Proteinquelle (Conconi et al., 1984; Churchward-Venne et al. 2017). Aus ernährungsphysiologischer Sicht stellen Insekten eine geeignete Proteinquelle dar, da die Konzentration essentieller Aminosäuren hoch ist (WHO, 2007) und der Bedarf eines Erwachsenen gedeckt werden kann (FAO, 2007). Die Aminosäuren-Zusammensetzung variiert, wie auch der Proteingehalt, im Vergleich der unterschiedlichen Ordnungen. Die Ordnungen *Coleoptera*, *Hymenoptera*, *Lepidoptera* und *Orthoptera* decken oder überschreiten den Bedarf essentieller Aminosäuren eines Erwachsenen und sind somit vergleichbar mit Fleisch, Eiern, Milch oder Soja (Churchward-Venne et al. 2017). Die Ordnungen *Blattodea*, *Diptera*, *Hemiptera* und *Isoptera* zeigen mögliche Defizite bei einer der folgenden Aminosäuren: Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin und Cystein (Churchward-Venne et al. 2017). Als häufigste limitierende Aminosäuren wurden Tryptophan, Lysin und schwefelhaltige Aminosäuren über alle essbaren Insekten-Spezies hinweg identifiziert (Bukkens, 1997).

2.8 *Tenebrio molitor L.* aus ernährungsphysiologischer Sicht

Mehlwürmer sind reich an Protein und Fett. Der Rohproteingehalt liegt zwischen 44 und 69% (Veldkamp et al., 2012). Der Rohfettgehalt kann zwischen 31 und 43% liegen (Barker et al., 1998; Cirad, 1991; Finke, 2002; Jones et al., 1972; Klasing et al., 2000 und Martin et al., 1976). Veldkamp et al. (2012) fanden Fettgehalte zwischen 23 und 47% (Veldkamp et al., 2012). Die Fettfraktion verfügt über adäquate Gehalte an mehrfach-ungesättigten Fettsäuren (Nowak et al., 2014). Mehlwürmer stellen eine Quelle für Zink und Magnesium dar. Der Calciumgehalt ist in Mehlwürmern vergleichsweise gering (Nowak et al., 2014). Des Weiteren ist der Mehlwurm eine Quelle für Niacin, Pyridoxin, Riboflavin und Vitamin B12 (Nowak et al., 2014). Payne et al. (2016) konnten in ihrer Studie einen höheren Ernährungswert des Mehlwurms gegenüber Fleisch von Rind und Geflügel feststellen (Payne et al., 2016). Zur Ermittlung dieses Vergleichs wand die Arbeitsgruppe zum einen das „Ofcom-Modell“ und zum anderen das Modell des *Nutrient Value Scores* an (Payne et al., 2016). Mehlwürmer sind eine geeignete Quelle für alle essentiellen Aminosäuren (Rumpold und Schlüter, 2012). Die schwefelhaltige Aminosäure Methionin ist die limitierende Aminosäure von *Tenebrio molitor L.* als Proteinquelle (Ramos-Eloduy et al., 2002).

2.9 Chitin und dessen Auswirkungen auf den Stoffwechsel

Bei Chitin handelt es sich um ein Polyglucosamin, welches in Pilzen und im Exoskelett von Arthropoden zu finden ist (Muzzarelli, 1983; Furda, 1983). Ähnlich wie Cellulose ist Chitin durch die Enzyme der Säugetiere unverdaulich (Gallaher et al., 2000). Der Chitingehalt in Insekten variiert in der Frischmasse von 2,7 bis 49,8 mg · kg⁻¹ und in der Trockenmasse von 11,6 bis 137,2 · mg · kg⁻¹ (Finke, 2007). Chitosan ist direkt von Chitin ableitbar und stellt die deacetylierte Form des Chitins dar (Furda, 1983). Chitosan zeigte in zahlreichen Tierstudien eine cholesterinsenkende Wirkung (LeHoux und Grondin, 1993; Razdan und Pettersson, 1994; Sugano et al., 1978, 1980). Die Eigenschaften von Chitosan sind schwach anionisch, harzähnlich und mit hoher Viskosität, worauf der cholesterin-senkende Effekt zurückzuführen ist. Die Cholesterin-Aufnahme wird reduziert (McNamara et al., 1980) und die Gallensäuren-Sekretion wird gesteigert (Gallaher und Franz, 1990; Stanley et al., 1973). Chitosan bildet im Duodenum Agglomerate mit Fetten und Cholesterin und verringert so deren Absorption im Verdauungstrakt. Es kann eine erhöhte Fettausscheidung festgestellt werden (Sugano et al., 1980). Chitosan-Oligosaccharide sind bioaktive Substanzen mit neuroprotektiver,

antibakterieller, antientzündlicher Wirkung (Yan et al., 2006; Kim et al., 2009; Yang et al., 2009; Ju et al., 2010; Fernandes et al., 2012; Walsh et al., 2012; Niu et al., 2013). Die cholesterinsenkende Wirkung kommt also dadurch zu Stande, dass Cholesterin selbst, aber auch Gallensäuren vermehrt ausgeschieden werden, welche in der Leber *de-novo* aus Cholesterin synthetisiert werden müssen (Tapola et al., 2008). Moon et al. (2007) untersuchten die Wirkungen von 2% und 5% Chitosan in der Diät von Ratten. Der Cholesteringehalt im Serum war für beide Behandlungsgruppen gleichermaßen signifikant reduziert im Vergleich zur Kontrollgruppe. Für Triglyzerid-Konzentrationen im Serum konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. In der Leber konnte eine dosisabhängige Reduzierung der Triglyzerid-Konzentrationen durch den Einsatz von 2% und 5% Chitosan gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet werden. Die Konzentration von Cholesterin in der Leber wurde durch den Einsatz von 5% Chitosan signifikant reduziert im Vergleich zur Kontrollgruppe (Moon et al., 2007).

2.10 Einsatz von Insekten in der Ernährung von Nutztieren

2.10.1 Einsatz von Insekten in der Aquakultur

Die Aquakultur ist der am schnellsten wachsende Sektor der Tierproduktion (Subasinghe et al., 2009). Der Fischfang aus internationalen Gewässern wird zu einem Großteil zu Fischmehl und Fischöl verarbeitet und zur Ernährung der Aquakulturen verwendet. Im Jahr 2010 wurden 73% des erzeugten Fischmehls und 71% des Fischöls in der Aquakultur eingesetzt (FAO, 2014). Aufgrund der Überfischung der Weltmeere ist die Produktion von Fischmehl und –öl von 30,2 Millionen Tonnen Lebendgewicht im Jahre 1994 auf 16,3 Millionen Tonnen (2012) gesunken (FAO, 2014). Der gesteigerte Bedarf an Fischmehl und –öl für die Aquakulturen bei gleichzeitigem Rückgang der Ressourcen aus den Weltmeeren, ist der Preis für Fischmehl und –öl in den vergangenen Jahren kontinuierlich gestiegen (Stramer, 2009). 40-70% der Kosten für die Fischproduktion in der Aquakultur werden dem Einsatz der Futtermittel zugeschrieben (Wilson, 2002; Rana et al., 2009), besonders kostenintensiv sind karnivore Fischarten (Manzano-Agugliaro et al., 2011). Pflanzliche Quellen für Proteine und Lipide, wie Soja, werden in der Diät von Nutzfischen eingesetzt (Espe et al., 2006; Gatlin et al., 2007). Der Einsatz pflanzlicher Proteinquellen in der Aquakultur erwies sich jedoch als nicht ausreichend, bzw. führt ein hoher Anteil von pflanzliche Proteinquellen in der Diät von Nutzfischen zu Entzündungen des Magendarmtraktes (Merrifield et al., 2011), bis hin zu Organschäden bei

Lachsen (Stramer, 2009). Hierfür werden antinutritive Inhaltsstoffe, welche typischerweise in pflanzlichen Futtermitteln zu finden sind, verantwortlich gemacht (Tacon, 1993; Francis et al., 2001; Ogunji, 2004; Collins, 2014). Eine alternative Quelle für Fischmehl und -öl ist von Nöten, hier stellt der Einsatz von Insekten eine vielversprechende Alternative dar (Tromberlin et al., 2015). In der Fütterung des Afrikanischen Welses (*Clarias griepinus*) können sowohl frische Mehlwürmer, als auch Getrocknete eingesetzt werden (Ng et al., 2001). Ein 40%iger Einsatz von getrockneten, gemahlenen Mehlwürmern ergibt im Vergleich zu Fischmehl ein vergleichbares Wachstum und einen vergleichbaren Futterumsatz. Ein Austausch von bis zu 80% ist möglich ohne negative Beeinträchtigungen von Wachstumsraten und Futteraufnahme zu beobachten. Der Einsatz lebender Mehlwürmer kann eine geringe Verschlechterung der Wachstumsleistung zur Folge haben (Ng et al., 2001). Der Einsatz von *Tenebrio molitor L.*, in der Fütterung afrikanischer Welse, führt zu einem signifikant höheren Fettgehalt im Schlachtkörper (Ng et al., 2001). Piccolo et al. (2014) setzten 25% und 50% *Tenebrio molitor L.*, im Austausch gegen Fischmehl, in der Fütterung junger, wachsender Doraden (*Sparus aurata*) ein. Ein 25%iger Austausch von Fischmehl mit Mehlwurmlarvenmehl zeigte hierbei keine Beeinträchtigung des Wachstums, während ein 50%iger Austausch die Wachstums-, Futterumsatz- und Proteinumsatzrate beeinträchtigte. Die Körperzusammensetzung zeigte keine Beeinflussung. Ein 25%iger Austausch ist für die Dorade ohne Beeinträchtigung der Leistungsparameter praktisch umsetzbar (Piccolo et al., 2014). In einer Untersuchung von Gasco et al. (2014) konnte ein Einsatz von 50% *Tenebrio molitor L.*, im Austausch gegen Fischmehl, in der Diät von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) ohne Beeinträchtigung der Leistungsparameter beobachtet werden. In einer weiteren Arbeit von Gasco et al. (2016) wurden 25% und 50% des Fischmehls in der Diät von Zackenbarschen (*Dicentrarchus labrax*) durch *Tenebrio molitor L.* substituiert. Bei einem 25%igen Austausch war keine Beeinträchtigung der Leistungsparameter feststellbar. Ein 50%iger Austausch zeigt eine verringerte Wachstums- und Futterumsatzrate. Die Proteinumsatzrate, die Futteraufnahme und die Körperzusammensetzung wurden bei einem 50%igen Austausch nicht beeinflusst. Der Einsatz von *Tenebrio molitor L.* beeinflusst des weiteren die Fettsäuren-Zusammensetzung des Körperfettes von Zackenbarschen (Gasco et al., 2016).

2.10.2 Einsatz von Insekten bei Geflügel

Insekten stellen für Geflügel eine natürliche Nahrungsquelle dar (Veldkamp et al., 2012). Der Einsatz von Mehlwurmlarven in der Geflügelfütterung stellt eine geeignete Proteinquelle und

eine geeignete Alternative für Soja- und Fischmehl dar. Die Aminosäure Methionin ist die limitierende Aminosäure (Ramos-Eloduy et al., 2002). Der geringe Calciumgehalt ist in der Geflügelfütterung von Bedeutung. Der Calciumgehalt und das Ca:P-Verhältnis können durch eine Anreicherung des Futtersubstrats der Mehlwürmer verbessert werden. Ein Einsatz von 8% CaCO₃ im Substrat der Mehlwürmer stellte sich als sinnvoll heraus. Es konnte eine hohe Verfügbarkeit des Calciums für wachsendes Geflügel aus derart angereicherten Mehlwurmlarven festgestellt werden (Klasing et al., 2002; Makkar et al., 2014). Bereits eine 72-stündige Fütterung der Mehlwurmlarven zeigte einen akzeptablen Calciumgehalt innerhalb von 24 Stunden (Anderson, 2000).

Der Einsatz von *Tenebrio molitor L.* in der Mastgeflügel-Fütterung ist praxistauglich. Ramos-Elorduy et al. (2014) konnten bei einem Einsatz von 10% getrockneten Mehlwürmern, basierend auf einer Sorghumhirse-Sojabohnenmehl-Diät, keine negativen Beeinträchtigungen auf das Wachstum, die Futteraufnahme, den Futterumsatz und die Akzeptanz der Diät feststellen. Schiavone et al. (2014) fanden einen Einsatz von bis zu 25% in der Diät als vorteilhaft.

Auch für Legehennen ist der Einsatz von *Tenebrio molitor L.* in der Diät sinnvoll (Giannone, 2003). Eine Substitution von getrockneten, gemahlten Mehlwürmern in einer Fischmehl-basierten Diät kann die Eilegerate um 2,4% verbessern (Wang et al., 1996). Bovera et al. 2015 ersetzten die Referenzproteinquelle Sojamehl, in einer Geflügeldiät vollständig durch Larven von *Tenebrio molitor L.* und konnten keine Beeinflussung des Wachstums, der Futteraufnahme und der Futtermittelverwertung beobachten (Bovera et al., 2015).

2.10.3 Einsatz von Insekten bei Schwein und Rind

Zum derzeitigen Stand liegen keine Informationen zur Fütterung von Mehlwürmern oder daraus hergestellten Produkten an Rindern vor (Makkar et al., 2014). Das europäische Gesetz verbietet jedoch nach wie vor die Fütterung tierischer Proteine an Wiederkäuer (Deutscher Verband für Tierernährung, 2021). Der Sektor der Schweineproduktion hat sich in den vergangenen 50 Jahren vervierfacht und wird global betrachtet in Zukunft weiter ansteigen, dies wird erhebliche Einflüsse auf die Futterproduktion und auf den Flächenbedarf haben (Lassaletta et al. 2019). 2019 wurde die weltweite Futtermittelproduktion auf 1.126 Millionen Tonnen geschätzt (Alltech, 2020). Die Produktion von Schweinefutter im Jahr 2019 wurde auf 261 Millionen Tonnen geschätzt, was 23,2 % der gesamten weltweiten Futtermittelproduktion entspricht. Im Jahr 2019 betrug die Schweinefutterproduktion in Europa 79,5 Millionen Tonnen, was 30 %

der gesamten Schweinefutterproduktion ausmacht (Alltech, 2020). Der erwartete Anstieg der Weltbevölkerung und des Konsums von Schweinefleisch wird in Zukunft eine höhere Nachfrage an Schweinefutter erfordern (Veldkamp und Vernooji, 2021). Das in der Schweinediät häufig eingesetzte Sojamehl hat große ökologische Auswirkungen hinsichtlich Flächen- und Wasserverbrauch und erfordert meist weite Transportwege (Wiedmann et al. 2016). Lokal produzierte pflanzliche Proteinquellen würde weite Transportwege reduzieren, jedoch bleibt ein hoher Flächenbedarf bestehen. Der Einsatz von Insekten in der Schweinediät könnte sowohl weite Transportwege als auch hohe Flächenbeanspruchung reduzieren (Van Zanten et al. 2018). Für Schweine stellen Insekten eine natürliche Nahrungsquelle dar (Newton et al., 1977), der Einsatz von Insekten in der Diät von Schweinen erscheint somit sinnvoll. Ji et al. (2016) untersuchten unter anderem den Einsatz von *Tenebrio molitor L.* in der Fütterung von Absatzferkeln. Bei einem Einsatz von 5% *Tenebrio molitor L.* in der Diät von Absatzferkeln konnte keine Beeinträchtigung der Leistung und der Gesundheit festgestellt werden (Ji et al., 2016). Meyer et al. (2020b) ersetzen 5 und 10% Sojaextraktionsmehl durch Mehl der Larven von *Tenebrio molitor* in der Ration wachsender Schweine und konnten keine Beeinträchtigung der Leistungsparameter feststellen. Lediglich die tägliche Gewichtszunahme stellte sich bei einem 10%igen Austausch reduziert dar (Meyer et al. 2020b). In einer Übersichtsarbeit von Veldkamp und Vernooij (2021) sind die Auswirkungen auf Leistungsparameter, Aminosäuren-Verdaulichkeit und mögliche gesundheitliche Auswirkungen durch den Einsatz von Insektenprodukten in der Diät von Schweinen zusammengestellt. Leistungsparameter und gesundheitliche Parameter wurden durch den Einsatz von Insekten in der Diät nicht beeinträchtigt. Die betrachteten Studien lieferten unterschiedliche Ergebnisse, dies führen die Autoren auf die unterschiedlich eingesetzten Insektenarten und deren unterschiedlichen Stadien (Veldkamp und Vernooij, 2021). Im Sommer 2021 verabschiedete die EU-Kommission die TSE-Verordnung, wodurch das Fütterungsverbot tierischer Proteine an Nicht-Wiederkäuer aufgehoben wird. Es ist gesetzlich möglich Schweinen künftig verarbeitete, tierische Proteine aus Nutzinsekten zu füttern.

2.10.4 Einsatz von Insekten in der Heimtier- und Zootierfütterung

Immer mehr Hunde leiden an allergischen Reaktionen auf Futtermittel. Der häufigste Auslöser für eine solche Reaktion sind die im Futter enthaltenen Proteine. Die Eliminierung der betroffenen Proteinquelle ist obligatorisch und erfordert den Einsatz anderer Proteinquellen in der Diät (Verlinden et al., 2006). Eine freilebende Katze nimmt natürlicherweise bis zu 6%

Insekten auf (Plantinga et al., 2011). Bosch et al. (2013) untersuchten mit einer in-vitro-Methode die Verdaulichkeit von Mehlwurmlarven für fleischfressende Tierarten, wie Hund und Katze. Für den Mehlwurm konnte eine Verdaulichkeit der organischen Substanz (OS) von 91,5% ermittelt werden. Für die Protein-Verdaulichkeit ergab sich eine Verdaulichkeit, in-vitro, von 91,3%, woraus eine Eignung von *Tenebrio molitor L.*, als Proteinquelle, in der Heimtierernährung fleischfressender Tierarten deutlich wird (Bosch et al., 2013). In der Fütterung insektivorer Heim- und Zootiere werden bereits seit Jahren Insekten, vor allem Larven des Mehlkäfers, eingesetzt (Finke, 2002; Aquilar-Miranda et al., 2002; Haroudin und Mahoux, 2003; Veldkamp et al., 2012; van Huis, 2013; Grau et al., 2017)

2.11 Einfluss von Proteinen auf den Lipidstoffwechsel

2.11.1 Einfluss des Proteingehaltes und der Proteinquelle auf den Lipidstoffwechsel

Ein hoher Proteingehalt in der Diät führt zu einer verringerten Nahrungsaufnahme, da der Appetit gedrosselt wird (Anderson und Moore, 2004). Bei Betrachtung der Makronährstoffe haben Proteine ein höheres Sättigungsvermögen und einen höheren thermogenen Effekt als Fette und Kohlenhydrate (Skov et al., 1999; Baba et al., 1999; Weigle et al., 2005). Diäten mit erhöhtem Proteingehalt, bei konstantem Fettgehalt, führen zu Gewichtsverlusten (Skov et al., 1999). Es ist bekannt, dass nicht nur Kohlenhydrate und Fette den Lipidstoffwechsel beeinflussen, sondern auch ein Einfluss durch die aufgenommene Proteinquelle besteht (Lindholm und Eklund 1991; Kayashita et al., 1997; Brandsch et al., 2006). Zu unterscheiden ist die Herkunft des Proteins. Pflanzliche Proteine, wie Sojaprotein oder Lupinenprotein, zeigen eine cholesterin- und lipidsenkende Wirkung in Leber und Plasma gegenüber Proteinquellen tierischen Ursprungs (Carroll, 1991; Bakhit et al., 1994; Anderson et al., 1995; Carroll und Kurowska, 1995; Sirtoni et al., 1998; Iritani et al., 1996; Potter et al., 1998; Wang et al., 1998; Koba et al., 2003; Zhan und Ho, 2005; Shukla et al., 2007). In einigen Studien konnte eine triglyzerid- und/oder cholesterinsenkende Wirkung durch Fischprotein im Plasma von Ratten im Vergleich mit Casein als Proteinquelle festgestellt werden (Murata et al., 2002; Ait Yahia et al., 2005; Shukla et al. 2007, Wergedahl et al., 2004).

Die Wirkung verschiedener Proteinquellen auf den Lipidstoffwechsel in verschiedenen Tierstudien ist hinreichend untersucht. Zahlreiche Studien konnten eine cholesterin- und lipidsenkende Wirkung durch den Einsatz von pflanzlichen Proteinquellen, wie Sojabohnen, Lupinen oder Erbsen, im Vergleich zu Casein, zeigen (Sitori et al., 1998; Baum et al., 1998;

Tovar et al., 2002; Rosell et al., 2004; Martins et al., 2000; Marchesi et al., 2008; Shukla et al., 2007; Spielmann et al., 2008; Bettzieche et al., 2009). Die Wirkung wird zum einem dem geringen Methionin-Gehalt (Morita et al., 1996; Sugiyama et al., 1996, 1997; Shimada et al., 2003), aber auch dem Verhältnis der Aminosäuren Arginin und Lysin, zugeschrieben (Kritchevsky et al., 1982; Sugano et al., 1984; Gudbrandsen et al., 2006).

2.11.2 Einfluss von Sojaprotein auf den Lipidstoffwechsel

Soja gehört der Gruppe der Leguminosen an, mit einem vergleichsweise hohen Proteingehalt (35-40%). Der Bedarf essentieller Aminosäuren kann für Erwachsene und Heranwachsende durch Soja gedeckt werden (Young, 1991). Die limitierende Aminosäure im Sojaprotein ist Methionin. Ratten haben einen um etwa 50% höheren Bedarf an Methionin im Vergleich zum Menschen, dennoch konnte in einem Fütterungsversuch mit Ratten mit Soja und Casein, als Referenzprotein, kein verringertes Wachstum durch das Sojaprotein, im Vergleich zu Casein als Poteinquelle, festgestellt werden (Tovar et al., 2002). Neben den ernährungsphysiologischen Eigenschaften des Sojas hinsichtlich einer bedarfsdeckenden Versorgung mit essentiellen Aminosäuren, wurde in zahlreichen Studien, sowohl beim Mensch als auch in verschiedenen Tiermodellen, eine Senkung der Cholesterin- und Lipidkonzentration im Plasma belegt (Sitori et al., 1998; Baum et al., 1998; Tovar-Palacio et al., 1998; Tovar et al., 2002; Rosell et al., 2004). Diese Effekte werden durch eine SREBP-vermittelte reduzierte Fettsäurensynthese in der Leber verursacht (Tovar et al., 2002; 2005; Nagasawa et al., 2003; Ascencio et al., 2004; Shukla et al., 2007). Die cholesterin- und lipidsenkende Wirkung ist nicht ausschließlich auf die Aminosäuren-Zusammensetzung, sondern auch auf phytochemische Inhaltsstoffe, wie Isoflavone, zurückzuführen (Kotosopoulos et al., 2000; Anderson, 2001).

2.11.3 Einfluss von Lupinenprotein auf den Lipidstoffwechsel

Die Lupinen zählen, wie auch Soja, zu den Leguminosen und weisen ähnlich hohe Protein- und Aminosäuregehalte auf. Lupinen sind reich an Oligosacchariden und Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) (Barneveld, 1999). Der Isoflavon- und Fett-Gehalt ist geringer als im Soja (Gueguen und Cerletti, 1994; Katagiri et al., 2000). Als Futter- und Lebensmittel kommen vor allem Süßlupinen, wie die weiße Lupine (*Lupinus albus*), die blaue Lupine (*Lupinus angustifolius*) und die gelbe Lupine (*Lupinus luteus*) zum Einsatz (Spielmann et al., 2007). Im Vergleich zu anderen pflanzlichen Proteinquellen enthalten Lupinen geringere Gehalte

antinutritiver Stoffe (Evans et al., 1993). In zahlreichen Tierstudien sowie in der Humanstudien, konnte ein hypolipidämischer und hypocholesterinämischer Effekt durch Lupinen gezeigt werden (Anderson et al., 1995; Sitori et al., 1995; Marchesi et al., 2008; Bettzieche et al., 2009). Spielmann et al. (2007) konnten neben reduzierten Triglyzeridgehalten in Leber und Plasma von Ratten eine reduzierte Genexpression des Transkriptionsfaktors SREBP-1c feststellen, wodurch die reduzierten Triglyzerid- und Cholesteringehalte auf eine verringerte Synthese von Triglyzeriden und Cholesterin zurückzuführen sind (Spielmann et al., 2007).

2.12 Aktueller gesetzlicher Rahmen zum Einsatz von Insekten in der Lebens- und Futtermittelproduktion

Seit dem Aufkommen der Tierseuche Bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) in den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts in Europa wurde in der EU-Verordnung (EG) 999/2001 der Einsatz tierischer Proteine in der Fütterung von Nutztieren gesetzlich verboten. Dieses Fütterungsverbot wurde 2021 teilweise aufgehoben, so dass es in Zukunft möglich ist Nicht-Wiederkäuer mit verarbeiteten Proteinen aus Nutzinsekten zu füttern.

Seit 2018 ist der Einsatz von Insekten in der Aquakultur, durch die Verordnung (EG) 56/2013, in der EU gesetzlich erlaubt. Die europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority, EFSA) ist der Fragestellung nach einem möglichen Risikoprofil nachgegangen.

Insekten, die in der EU zur Erzeugung von Lebensmitteln, Futtermitteln oder anderen Zwecken gehalten werden, werden formal zu den Nutztieren gezählt und unterliegen damit den EU-Futtermittelvorschriften. Sie dürfen demnach nicht mit Materialien wie Gülle, Küchen- oder Speiseabfällen oder Fleisch- oder Fischprodukten gefüttert werden. Unter „*Novel-Food*“ oder neuartigen Lebensmitteln versteht man solche, die in der EU vor 1997 nicht in nennenswertem Umfang im Handel waren oder verzehrt wurden. Seit dem 01. Januar 2018 gehören Insekten zu dieser Gruppe „*Novel-Food*“ und fallen damit unter die *Novel-Food*-Verordnung (EG) 2015/2283. Zuvor war die Regelung innerhalb der EU nicht einheitlich. In Belgien und den Niederlanden durften unter bestimmten Bedingungen Insekten und daraus erzeugte Lebensmittel seit 2015 vermarktet werden. In der Schweiz sind Grillen, Heuschrecken und Mehlwürmer seit Mai 2017 als Lebensmittel zugelassen. Für die Zulassung eines Lebensmittels, welches Insekten oder Teile von Insekten beinhaltet, bedarf es einer Zulassung durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA). Zusätzlich beinhaltet die EU-Verordnung (EG) 2015/2283 eine mögliche Zulassung eines insektenbasierten

Lebensmittels aus Drittländern, wenn nachgewiesen werden kann, dass dieses dort seit mindestens 25 Jahren traditionell verzehrt wurden und keine Sicherheitsrisiken bestehen. Die Larven des Mehlwurmes (*Tenebrio molitor L.*), sowohl im Ganzen, als auch als Pulver, getrocknet oder frisch, hat die EFSA am 13.01.2021 als unbedenkliches Lebensmittel freigegeben. Es wird davon ausgegangen, dass keine ernährungsphysiologischen Probleme im Zusammenhang stehen. Jedoch wird darauf hingewiesen, dass der Proteingehalt möglicherweise überschätzt würde und Kreuzallergien bei empfindlichen Personen möglich seien (Turck et al. 2021). Seit Mai 2021 sind der gelbe Mehlwurm (*Tenebrio molitor L.*) und seit November 2021 die europäische Wanderheuschrecke (*Locusta migratoria*) als Lebensmittel in der EU zugelassen. Für alle anderen Insektenarten, wie beispielsweise die schwarze Soldatenfliege (*Hermentia illucens*), gilt nach wie vor die Übergangsregelung der *Novel-Food-Verordnung* (Verbraucherzentrale des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft, 2021).

3 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die Wissenschaften stehen vor der Herausforderung der Versorgung der wachsenden Weltbevölkerung mit qualitativ hochwertigen Proteinquellen und damit der Versorgung mit essentiellen Aminosäuren. Das stetige Wachstum der Weltbevölkerung auf der einen Hand und die limitierten Bioressourcen, wie Ackerland und Wasser, auf der anderen Hand erfordern die Erschließung nachhaltiger und effizienter Proteinquellen (Wu et al., 2014; United Nations, 2017). In den letzten Jahren zeigte sich Insektenmehl als eine solche geeignete Proteinquelle. Insektenmehl kann ressourcenschonend in Massenproduktion hergestellt werden und hat relativ geringe Auswirkungen auf die Umwelt (Van Huis und Oonincx, 2017). Sowohl Jin et al. (2016) als auch Meyer et al. (2020b) konnten keine Beeinträchtigung des Wachstums oder Nebenwirkungen durch den Einsatz von Insektenmehl im Vergleich mit konventionellen Proteinquellen bei wachsenden Schweinen beobachten. (Ji et al., 2016; Meyer et al. 2020b).

Das metabolische Syndrom ist definiert als ein gesundheitliches Problem, dem genetische Faktoren und Umweltfaktoren zu Grunde liegen (DeArtiñano und Castro, 2009). Zur Erforschung und zur Entwicklung möglicher Behandlungen von Fettleibigkeit und des metabolischen Syndroms bedarf es geeignete Tiermodelle. Das hierfür meist verwendete Tiermodell ist die fettleibige Zuckerratte, da die Übertragbarkeit auf den Menschen am nächsten scheint (DeArtiñano und Castro, 2009).

Zahlreiche Tierstudien konnten eine cholesterin- und lipidsenkende Wirkung durch den Einsatz von pflanzlichen Proteinquellen, wie Sojabohnen, Lupinen oder Erbsen, im Vergleich zu Casein, zeigen (Sitori et al., 1995, 1998; Baum et al., 1998; Tovar-Palacio et al., 1998; Tovar et al., 2002; Rosell et al., 2004; Martins et al., 2005; Marchesi et al., 2007; Shukla et al., 2007; Spielmann et al., 2008; Bettzieche et al., 2009). Die Wirkung wird zum einen dem geringen Methionin-Gehalt (Morita et al., 1996; Sugiyama et al., 1996, 1997; Shimada et al., 2003), aber auch dem Verhältnis der Aminosäuren Arginin und Lysin, zugeschrieben (Kritchevsky et al., 1982; Sugano et al., 1984; Vahouny et al., 1985; Gudbrandsen et al., 2006).

Ähnlich wie das Sojaprotein verfügt das Insektenmehl über einen relativ geringen Methioningehalt (Ramos-Eloduy et al., 2002). Ein geringer Methioningehalt in der Diät verursacht eine reduzierte Triglyzerid-Synthese in der Leber von Ratten (Orentreich et al., 1993; Richie et al., 1994; Perrone et al., 2010), während ein Methionin-Überschuss in der Diät das Gegenteil bewirkt (Hirche et al., 2006a).

Die Wirkung von Insektenprotein auf den Lipidstoffwechsel ist zum derzeitigen Stand kaum erforscht und stellt die Grundlage dieser Dissertation dar. Aufgrund des geringen Methionin-

Gehaltes wird dem Insektenprotein, hergestellt aus den Larven des Mehlwurms, eine dosisabhängige lipid- und cholesterinsenkende Wirkung postuliert. Diese Dissertation soll die Hypothese untersuchen, dass die Fütterung von Insektenmehl an fettleibige Zuckerratten den Lipidstoffwechsel beeinflusst. Diese Arbeit soll also weitere Erkenntnisse über einen möglichen Einsatz von Insektenmehl als Futter- und Lebensmittel liefern, ohne die Leistung zu beeinträchtigen oder gegebenenfalls mit vergleichbaren gesundheitlichen Vorteilen wie der Vorbeugung einer Lebersteatose durch reduzierte Triglyzerid- und Cholesteringehalte in Plasma und Leber.

4 Material und Methoden

4.1 Chemikalien

Für die Analysen wurden folgende Chemikalien und Reagenzien verwendet

Chemikalie	Hersteller
5-fach Green GoTaq® Flexi Buffer	Promega GmbH, Walldorf, Deutschland
5-fach Puffer für cDNA-Synthese	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland
5-fach Ladepuffer	Promega GmbH, Walldorf, Deutschland
Acetyl-Carnitin HCl	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Acetyl-CoA	Biomol GmbH, Hamburg, Deutschland
Ammoniumperoxydisulfat (APS)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
β-Mercaptoethanol	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Bovine Serum Albumin (BSA)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Bromphenolblau	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Butyrobetan (BB) HCl	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Cystein HCl	Honeywell Fluka, Seelze, Deutschland
Diethylpyrocarbonat (DEPC)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Detergent	Active Motif, Carlsbad, Kalifornien
dNTPs	Gene Craft, Lüdinghausen, Deutschland
Dithiothreitol (DTT, 1M)	Active Motif, Carlsbad, Kalifornien
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Ethanol	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Formaldehyd	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain	Biotium, Hayward, Kalifornien
Glutathion (GSH)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Glycerol	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland

Hematoxilin	ScyTek Laboratories, Logan, Utah
Homocystein	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Hypotonic Buffer 10 x	Active Motif, Carlsbad, Kalifornien
Isopropanol	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
KAPA TM SYBR [®] FAST qPCR MasterMix for Bio-Rad iCycler TM	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
L-Carnitin	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Magermilchpulver	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Malonyl-CoA	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Methanol	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Methionin-D3	Eurisotop GmbH, Saarbrücken, Deutschland
NADPH/H ⁺	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
n-Hexan	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin (TEMED)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Oligo-(dT) Primer	Eurofins Operon Biotechnologie GmbH, Ebersberg, Deutschland
PageRuler TM Prestained Protein Ladder	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland
peqGOLD Universal Agarose	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
Ponceau S	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Propylenglykol	ScyTek Laboratories, Logan, Utah
Protease Inhibitor Cocktail	Active Motif, Carlsbad, Californien
RevertAid TM Reverse Transkriptase, 200 u/μL	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland
Roti-Load [®] Puffer	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
SAH-D4	Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan
Sodium Dodecylsulfat (SDS)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland

Tetramethylethyldiamin (TEMED)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Trimethyllysin (TML) HCl	Sigma Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Triton™ X 100	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland
Tween® 20	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland

4.2 Geräte

Für die Analysen wurden folgende Geräte verwendet.

Gerät	Hersteller
Bioanalyser Agilent 2100	Agilent Technology GmbH, Waldbronn, Deutschland
Cary®50 Bio-Spektralphotometer	Varian Deutschland GmbH, Darmstadt, Deutschland
Digitalkamera Leica DFC320	Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland
G:BOX (Lumineszenzimager)	Syngene, Cambridge, Großbritannien
GeneFlash (UV-Licht-Imager)	Syngene, Cambridge, Großbritannien
Heidolph Duomax 1030 (Schwenker)	Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland
Heraeus Fresco 21 Zentrifuge	Thermo Electron LED GmbH, Osterode, Deutschland
Heraeus Incubator	Thermo Electron LED GmbH, Osterode, Deutschland
HPLC-System	Hitachi/VWR-HPLC-System, Darmstadt, Deutschland
Magnetrührer IKA®RCT Classic	IKA®-Werke, Staufen, Deutschland
Microtom Cryostat HM 500	MICROM International GmbH, Dreieich, Deutschland
Microplate Reader Infinte® M200	Tecan, Männedorf, Schweiz

Mikrozentrifuge GalaxyMiniStar	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Mikroskop Leica DM 5500 B	Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland
NanoQuant plate TM	Tecan, Männedorf, Schweiz
Potter-Elvhjem-Homogenisator	Braun GmbH, Melsungen, Deutschland
Präzisionswaage	Sartorius, Göttingen, Deutschland
Rotor-Gene Q	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland
TandemMassenspektrometer 3200 Q	ABSciex, Darmstadt, Deutschland
Thermocycler Tprofessionell BASIC	Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland
Thermomixer Comfort	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
TissueLyser	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland
Ultraschallwasserbad Sonorex	Bandelin electronic, Berlin, Deutschland
Ultrazentrifuge Optima™ TLX	Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland
UVP® HL-2000 HybridLinker™	
Hybridization Oven/ UV Crosslinker	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Vortex-Schüttler REAX 2000	Hedolph Instruments, Schwabach, Deutschland
Western Trans-Blot System	Bio-Rad, München, Deutschland
Gefriertrockner Christ Gamma 1-20	Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH Osterode, Deutschland

4.3 Verbrauchsmaterialien

Für die Analysen wurden folgende Verbrauchsmaterialien verwendet.

Material	Hersteller
Blotting-Papier Rotilabo®	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
CELLSTAR® Mikroplatten	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
Fiber Pads	Bio-Rad, München, Deutschland
Lignocel®	J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co KG, Rosenberg, Deutschland
Nylonmembran	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland
Pasteur-Pipetten	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland

Polyethylen-Röhrchen	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
PCR-Tubes (0,1 mL)	LTF Labortechnik GmbH & Co KG, Wasserburg, Deutschland
Peel-A-Way®Embedding Mold	Polysciences Europe GmbH, Hirschberg an der Bergstraße, Deutschland
Pipettenspitzen	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Raidex Markierungsspray	Raidex GmbH, Dettingen, Deutschland
Reaktionsgefäße (1,5 mL; 2.0 mL; 5,0 mL)	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Semi-micro Cuvette	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Tissue-Tek®O.C.T. TM Compound	Sakura Finetek GmbH, Staufen, Deutschland

4.4 Puffer und Lösungen

Für die Analysen wurden folgende Puffer verwendet.

Puffer	Zusammensetzung
50x TAE-Puffer	242 g Tris 57 mL Essigsäure 100 mL 0,5 M EDTA pH 8,0
1x TAE-Puffer	40 mL 50x TAE 1960 mL Reinstwasser
1x TBST	50 mM Tris 150 mM NaCl 0,2% Tween 20 pH 7,5
Boratpuffer	125 mM Na ₂ B ₄ O ₇ * 10 H ₂ O (M = 381,37 g · mol ⁻¹) 4 mM EDTA (M = 326,31 g · mol ⁻¹)
APS	100 mg gelöst in 900 µL Reinstwasser
DEPC-Wasser	0,1% DEPC in Reinstwasser 24-stündige Inkubation bei 37°C
Homogenisierungspuffer	0,1 M Phosphatpuffer 0,25 M Sucrose

	pH 7,4
NaOH-Lösung	1,55 M ($M = 40 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$)
PBS-Puffer	137 mM NaCl 2,7 mM KCl 10 mM Na_2HPO_4 2 mM KH_2PO_4
Ponceau S	250 mg Ponceau S gelöst in 500 μL Eisessig und 46,5 mL Reinstwasser
Präinkubationsmedium (FAS)	500 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (pH 7,0) 5 mM DTT
RIPA-Puffer	2,5 mL 1,0 M Tris 6,85 mL 1,0 M NaCl 5,0 mL Glycerol 500 μL 10% SDS 5,0 mL Triton x 100 0,1 mL 50 mM EDTA 12,5 mL 2% iges Deoxycholat 21,15 mL steriles Wasser
Sammelgelpuffer	0,5 M TRIS pH 6,8
SBD-F-Lösung	Derivatisierungsreagenz (4-Fluoro-7-sulfobenzofuran) 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
SDS (10%)	1 g SDS gelöst in 10 mL Reinstwasser
SDS-Laufpuffer	25 mM TRIS 192 mM Glycin 3,5 mM SDS pH 8,3
Transferpuffer	25 mM TRIS 192 mM Glycin 20% Methanol
Trenngelpuffer	1,5 M TRIS pH 8,8
Trichloracetatsäure (TCA)	100 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

1 mM EDTA ($M = 326,31 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$)

4.5 Verwendete Reaktionssysteme (Kits)

Für die Analysen wurden folgende Reaktionssysteme (Kits) verwendet

Reaktionssystem	Hersteller
ECL Advance Western Blotting Detection Kit	GE Healthcare Europe GmbH, Solingen, Deutschland
Fluitest® CHOL Kat.-Nr. 4248, 4241	Analyticon Biotechnologies AG, Lichtenfels, Deutschland
Fluitest® TG Kat.-Nr. B9001, B9003	Analyticon Biotechnologies AG, Lichtenfels, Deutschland
Glucose-6Phosphate Dehydrogenase Assay Kit Kat. Nr. MAK015	Sigma Aldrich GmbH, München, Deutschland
HMG-CoA-Reductase Assay Kit Kat. Nr. CS1090	Sigma Aldrich GmbH, München, Deutschland
Nuclear Extract Kit	Active Motif Europe, La Hulpe, Belgien
Oil Red O Stain Kit	ScyTek Laboratories, Logan, Utah, USA
Protein QuantitationKit, BC-Assay Reagent A + B	Interchim, Montlucon, Frankreich
RNA 600 Pico Kit	Agilent Technology, Waldbronn, Deutschland
RNeasy® Mini Kit	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland

4.6 Tiere und Tierhaltung

Das Tiermodell der Zuckerratte wurde in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts vom Ehepaar Zucker beschrieben und nach seinen Entdeckern benannt. Die Mutation entstand durch die Kreuzung der Ratten-Stämme „Sherman“ und „Merck“. Homozygote Tiere des fa-Allels zeigen bereits im Alter von drei bis fünf Wochen eine Adipositas (Zucker und Antoniades, 1972). Die Tiere zeichnen sich durch Hyperphagie, Hyperlipidämie und Glucoseintoleranz aus (Bray und York, 1972; Zucker und Zucker, 1961; Ionescu et al., 1985). Insgesamt wurden 36 männliche, acht Wochen alte Zuckerraten (fa/fa) mit einem Anfangsgewicht von $280 \pm 27 \text{ g}$, auf drei

Gruppen aufgeteilt. Einer Gruppe wurde eine Diät mit Casein als Referenzprotein gefüttert (OC). Eine weitere Gruppe bekam eine Diät mit Insektenprotein zu 100% als Proteinquelle (OI100) und die dritte Gruppe wurde mit einer Diät mit Casein und Insektenprotein (OI50) gefüttert. Zusätzlich wurde eine Gruppe von zwölf männlichen, acht Wochen alte heterozygoten Zuckerratten (fa/+) mit einem Anfangsgewicht von 246 ± 14 g als schlanke Kontrollgruppe verwendet (LC), welcher die Diät mit Casein als Proteinquelle gefüttert wurde. Die Gruppeneinteilung des Versuches ist mit Genotyp und Proteinquelle in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Gruppeneinteilung der Versuchstiere

Gruppenbezeichnung	Genotyp	Proteinquelle
LC	fa/+	Casein
OC	fa/fa	Casein
OI50	fa/fa	Casein : Insektenmehl
OI100	fa/fa	Insektenmehl

Abk.: LC = lean Casein; OC = obese Casein; OI50 = obese Insektenmehl 50%; OI100 = obese Insektenmehl 100%

Die männlichen fettleibigen und schlanken Zuckerratten wurden zu zweit in einem Makrolon-Nager-Käfig Typ IV, mit einer Bodenfläche von 1815 cm^2 , gehalten. Die Käfige wurden mit LIGNOCEL® eingestreut und mit einer Rat-Retreat-Röhre und Zellstoff (Pehazell von Hartmann) ausgestattet. Die Haltung zu zweit ist tierschutzkonform, erfordert allerdings eine Markierung, um eine individuelle Lebendmassenerfassung zu ermöglichen. Jeweils eine der zwei Ratten wurde mit roter Farbe (RAIDEX Markierungsspray für Rinder und Schweine) an der Schwanzwurzel markiert. Hierfür wurde etwas Farbe in ein 50 mL Becherglas gesprüht und mit einem Pinsel auf die Schwanzwurzel des zu markierenden Tieres aufgetragen.

Der Raum wurde konstant bei $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ und 50-60% Luftfeuchtigkeit gehalten. Die Beleuchtung erfolgte von 07 bis 19 Uhr mit einer Beleuchtungsintensität von 100 Lux.

4.7 Diäten

Die verwendeten Diäten sind mit Ergebnissen der Analyse der Trockenmasse (TM), des Rohprotein- (XP), des Rohfett- (XL) und des Rohaschegehaltes (XA), in Tabelle 4 dargestellt. Die Gestaltung der Diäten erfolgte isonitrogen mit einem Proteingehalt von 20%. Die schlanke heterozygote Gruppe und die fettleibige Kontrollgruppe wurden mit Casein (C) als

Proteinquelle gefüttert. Eine der Untersuchungsgruppen bekam als Proteinquelle ausschließlich Mehl der Larven des Mehlkäfers (I100). Die zweite Untersuchungsgruppe bekam eine Mischung aus Insektenprotein (Mehl der Larven des Mehlkäfers) und Casein (I50). Das Mischungsverhältnis der I50-Diät bestand jeweils zur Hälfte aus Casein und Insektenmehl. Im Prozess der Herstellung des Insektenmehls wird das Produkt entfettet, dennoch verbleibt ein Fettgehalt von etwa 13%. Außerdem hat das Produkt einen Rohfasergehalt von 8%. Um die Gegebenheiten der unterschiedlichen Hauptnährstoffe zu berücksichtigen, wurden die Fettquellen in den Diäten angepasst. Das Fettsäuremuster des Insektenmehls wurde analysiert und in den Diäten C und I50 mit Sojaöl, Rapsöl, Distelöl, Leinöl und Butter an das Fettsäuremuster der Diät I100 angeglichen. Die Rohnährstoffe, der Chitingehalt sowie die Fettsäuren C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 und C18:3 des verwendeten Insektenmehls sind in Tabelle 3 dargestellt. In Tabelle 5 sind die Aminosäuren-Zusammensetzungen der Versuchsdiäten dargestellt. Mineralstoff- und Vitamin-Vormischungen sind in Tabelle 6 und 7 gezeigt.

Tabelle 3: Nährstoffe des verwendeten Insektenmehls

Nährstoff (g/100 g)	Insektenmehl
Trockenmasse (TM)	93,2
Rohprotein (XP)	71,4
Rohfett (XL)	13,0
Rohfaser (XF)	12,3
Rohasche (XA)	4,00
Chitin	12,8
Gesamtfettsäuren (g/100 g Fettsäuren)	2,85
C 14:0	
C 16:0	15,4
C 18:0	3,89
C 18:1	39,8
C 18: 2 n-6	34,7
C 18:3 n-3	1,52

Tabelle 4: Zusammensetzung der Versuchsdiäten

	C	I50	I100
<i>Inhaltsstoff (g/kg)</i>			
Maisstärke	550	550	550
Casein	200	100	-
Insektenmehl	0	131,5	263
Saccharose	100	100	100
Sojaöl	40	24	-
Rapsöl	10	4,8	-
Distelöl	1,5	5,8	15
Leinsamenöl	1,5	3,3	5,8
Butter	2	-	-
Cellulose	50	35,6	21,2
Mineralstoff-Mix	35	35	35
Vitamin-Mix	10	10	10
Energie (MJ/kg)	19,78	19,82	19,80
<i>Nährstoff (%)</i>			
Rohprotein (XP)	17,6	17,2	17,0
Rohfett (XF)	5,54	5,25	5,95
Rohasche (XA)	2,62	2,69	3,01
Trockenmasse (TM)	88,5	87,8	87,4

Tabelle 5 Aminosäuren-Gehalte in den Versuchdiäten

Aminosäure (g/kg Diät)	C	I50	I100
Alanin	6,36	9,63	14,2
Arginin	6,40	7,07	8,44
Asparaginsäure	14,3	14,7	16,2
Cystein	1,79	1,81	2,32
Glutaminsäure	43,3	30,6	20,2
Glycin	3,63	6,33	10,4
Histidin	5,17	5,07	5,03
Isoleucin	9,36	8,12	7,33
Leucin	17,5	15,2	13,3
Lysin	14,7	11,7	9,39
Methionin	5,52	3,65	2,13
Phenylalanin	9,49	7,70	6,10
Prolin	20,6	15,1	10,3
Serin	11,4	10,0	8,34
Threonin	8,07	7,38	6,84
Tryptophan	2,05	2,00	1,47
Tyrosin	11,0	10,7	13,9
Valin	11,0	11,0	10,4

Tabelle 6: Mineralstoffmix

Mineralstoff	Konzentration in mg/kg Diät
Calcium (CaCO_3)	5000
Kalium (KH_2PO_4 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	3600
Chlor (NaCl)	1571
Phosphor (KH_2PO_4)	1561
Natrium (NaCl)	1020
Magnesium ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	507
Schwefel ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	300
Eisen ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	35
Zink ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	30
Mangan ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	10
Kupfer ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	6
Fluor (NaF)	1
Chrom ($\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	1
Jod (KI)	0,2
Molybdän ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,15
Selen (Na_2SeO_3)	0,15
Lithium (LiCl)	0,1

Tabelle 7: Vitaminmix

Vitamin	Konzentration pro kg Diät
Vitamin A, IE	4000
Vitamin D ₃ , IE	1000
Vitamin K, mg	0,75
Vitamin E, IE ¹	75
Vitamin B1, Thiamin, mg	5
Vitamin B2, Riboflavin, mg	6
Vitamin B6, Pyridoxin, mg	6
Vitamin B12, mg	0,025
Biotin, mg	0,2
Folsäure, mg	2
Nicotinsäure, mg	30
Cholinchlorid, mg	1000
Pantothensäure, mg	15

Während einer zweiwöchigen Adaptationsphase wurde eine bedarfsdeckende AIN93-G Ration gefüttert. Die Versuchsdieten wurden im Anschluss für 28 Tage ad libitum gefüttert.

4.8 Probennahme

Die Tiere wurden nach Betäubung mit Kohlendioxid (CO₂) dekaptiert und das Blut vollständig in Heparin Polyethylen-Röhrchen aufgefangen. Das Plasma wurde durch zentrifugieren bei 1.100 g für 10 Minuten bei 4°C gewonnen.

Die Bauchhöhle wurde eröffnet und die Leber wurde entnommen. Es wurden 10-15 mg der Leber für die Isolierung der RNA eingewogen und rasch in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die restliche Leber wurde für weitere Analysen in flüssigem Stickstoff eingefroren und bei -80°C gelagert. Desweiteren wurden Proben des *Musculus rectus femoris* genommen und ebenfalls in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

4.9 Microarray und qPCR

4.9.1 RNA-Isolierung

Um eine reine und hochwertige RNA zu generieren erfolgte die Isolierung der RNA aus der Leber mit Hilfe des RNeasy® Mini Kit von der Firma Qiagen etwa zwei Wochen nach der Probennahme. Bis dahin wurden die Proben bei -80°C gelagert. Es wurden etwa 15 mg des Lebergewebes eingewogen und nach Angaben des Herstellers verfahren. Die Proben wurden mit 350 µL „Buffer RLT“ und einer Edelstahlkugel versehen. Zuvor wurde der „Buffer RLT“ mit 10 µL je mL β-Mercaptoethanol versetzt. β-Mercaptoethanol dient der Deaktivierung der RNase, wodurch es möglich ist alle weiteren Schritte bei Raumtemperatur durchzuführen. Es folgt die Homogenisierung im TissueLyser bei 15 Hz für drei Minuten. Der „RLT-Buffer“ enthält Guanidiniumthiocyanat, wodurch sämtliche Zellen lysiert werden. Anschließend wurden die Proben bei maximaler Leistung (8000 g) zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß pipettiert. Es wurden 350 µL 70%iger Ethanol hinzugegeben und durch auf- und abpipettieren gemischt. Die 70%ige Ethanol-Lösung wurde zuvor aus reinem Ethanol und DEPC-Wasser hergestellt. 700 µL der Probelösung wurden auf die RNeasy-Säule gegeben und für 15 Sekunden bei 8000 g zentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen. 700 µL „Buffer RW 1“ wurden auf die RNeasy-Säule gegeben und für 15 Sekunden bei 8000 g zentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen. Der „RW 1-Buffer“ wäscht die Membran-gebundene RNA, RNase wird entfernt. 500 µL „Buffer RPE“ wurden auf die RNeasy-Säule gegeben und für 15 Sekunden bei 8000 g zentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen. Der „RPE-Buffer“ dient ebenfalls der Reinigung der RNA, bei diesem Schritt der Reinigung wird die Membran-gebundene RNA von Salzen gereinigt. Der Hersteller liefert ein Konzentrat des „Buffer RPE“, weshalb zuvor 44 mL 100%iger Ethanol hinzugefügt wurden. Ein weiteres Mal wurden 500 µL „Buffer RPE“ auf die RNeasy-Säule gegeben. Es wurde für zwei Minuten bei 8000 g zentrifugiert und auch hier wurde der Durchfluss verworfen. Die RNeasy-Säule wurde anschließend zum Trocknen in ein deckellooses Reaktionsgefäß gesteckt und für eine Minute bei maximaler Leistung zentrifugiert. Die RNeasy-Säule wurde in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß gesetzt und es wurden 30 µL RNase freies Wasser zum Lösen der RNA zugegeben. Es wurde für 60 Sekunden bei 8000 g zentrifugiert. Die gewonnenen RNA-Proben der Leber wurden bei -80°C gelagert.

4.9.2 RNA-Konzentrationsbestimmung

Die Messung der RNA-Konzentration und die Überprüfung der Reinheit der gewonnenen RNA erfolgte mittels OD (optical density) bei 260 und 280 nm. Hierfür wurde der Microplatten Reader Infinite® 200 PRO NanoQuant und die entsprechende Software der Firma Tecan verwendet. Für das *Blanking* der NanoQuant Plate-Tecan 16 Flat back wurden jeweils 2 µL DEPC-Wasser aufgetragen und bei 260 und 280 nm gemessen. Anschließend wurden 2 µL der Proben in einer Doppelbestimmung aufgetragen und ebenfalls bei den angegebenen Wellenlängen gemessen. Zuvor wurden die Proben mit DEPC-Wasser verdünnt. Mit Hilfe der ermittelten RNA-Konzentrationen können die benötigten Mengen zur Herstellung der cDNA berechnet werden.

4.9.3 Bioanalyser

Der Quotient aus OD_{260} und OD_{280} , aus der vorangegangenen photometrischen Konzentrationsmessung, lässt bereits Rückschlüsse auf eine mögliche Verunreinigung der isolierten RNA durch genomische DNA, Proteine und/oder aromatischer Substanzen zu.

Zusätzliche erfolgte eine Überprüfung der Integrität der RNA mit dem RNA 6000 Pico Kit mit dem Bioanalyser Agilent-2100, in der Inneren Medizin der Justus-Liebig-Universität Giessen, mit der Hilfe des dortigen Personals. Das Prinzip dieser Technik beruht auf dem Prinzip der Kapillarelektrophorese. Die Proben bewegen sich, gemeinsam mit einem mitgeführten Standard über Mikrokapillaren in einem elektrischen Feld und werden über Trennkapillaren entsprechend ihrer Fragmente aufgetrennt. Die Detektion erfolgt mit Hilfe eines Fluoreszenzdetektors. Die zugehörige Software von Agilent liefert, neben der RNA-Konzentration, die sogenannte RNA integrity number (RIN). Die RIN-Werte reichen von RIN 1 (komplette Degradation der RNA) bis zu RIN 10 (ohne Degradation der RNA) und ermöglichen eine laborunabhängige Beurteilung der Integrität der isolierten RNA.

4.9.4 cDNA-Synthese

Das Enzym Reverse Transkriptase schreibt bei der cDNA-Synthese die einsträngige RNA in die doppelsträngige, komplementäre DNA (cDNA) um. Das Enzym ist eine DNA-Polymerase, welches für die cDNA-Synthese Primer benötigt und RNA-abhängig arbeitet. Der cDNA-Ansatz enthielt $1,2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ gelöste RNA. Diese wurden mit der entsprechenden Menge DEPC-Wasser auf 10 µL Gesamtvolumen aufgefüllt und anschließend mit jeweils 15 µL Mastermix

gemischt und anzentrifugiert. Der Mastermix setzt sich wie in der Tabelle 8 dargestellt zusammen.

Tabelle 8: Zusammensetzung Mastermix für cDNA-Synthese

Reagenzien	Volumen pro Probe (μL)
5x Puffer	5
DEPC-Wasser	7,45
dNTP	1,25
Oligo (dT)-Primer	1
Reverse Transkriptase	0,3
+10 μL gelöste RNA	Endvolumen pro Probe: 25 μL

Abk.: DEPC-Wasser = Diethylpyrocarbonat-Wasser; dNTP =

Desoxyribonukleosidtriphosphat; dT = Desoxythymin

Die Proben wurden in den Thermocycler gestellt und für 60 Minuten auf 42°C erwärmt. Anschließend erfolgte eine Erhitzung auf 70°C. Abschließend wurde die Reverse Transkriptase für zehn Minuten bei 4°C inaktiviert. Die Proben wurden mit jeweils 75 μL DEPC-Wasser verdünnt, sodass ein Endvolumen von 100 μL vorlag. Bis zur Analyse erfolgte die Lagerung der Proben bei -20°C.

4.9.5 Microarray

Das Microarray wurde vom Kompetenzzentrum Fluoreszente Bioanalytik der Universität Regensburg durchgeführt. Hierfür wurden fünf RNA-Proben je Gruppe (n=5) zufällig ausgewählt, die RNA-Konzentration auf 200 ng \cdot μL^{-1} eingestellt und auf Trockeneis versendet. Die verwendeten Proben wiesen eine Ratio ($\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$) von $1,98 \pm 0,04$ und eine RIN von $9,0 \pm 0,4$ auf. Die Hybridisierung erfolgte mit dem Affymetrix GenChip Rat Gene 2.0.

4.9.6 Auswertung des Microarrays

Für die Auswertung des Microarrays wurde der Vergleich der fettleibigen Gruppe, die zu 100% Insektenmehl als Proteinquelle fraßen, verwendet. Es wurden Genlisten für hoch- und runterregulierte Gene erzeugt, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% und einem „Fold Change“ von 1,3 bzw. -1,3. Um beeinflusste Stoffwechselwege identifizieren zu können, wurden die Genlisten für hoch- und runterregulierte Gene mit der kostenlosen Online-

Datenbank „DAVID bioinformatics 6.8“ (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) ausgewertet. DAVID bioinformatics wurde vom Labor für Immunopathogenese und Bioinformatik von Huang et al. (2008) für eine funktionelle Interpretation großer Genlisten entwickelt.

4.9.7 Quantitative Echtzeit-PCR (qPCR)

Die Polymerasenkettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) vervielfältigt mit Hilfe der DNA-Polymerase und spezifischen Primern das zu untersuchende Zielgen. Diese Reaktion erfolgt in drei Phasen, welche zyklisch wiederholt werden. Zunächst erfolgt die Denaturierung der DNA bei 95°C, hierbei werden die Doppelstränge voneinander getrennt. Es folgt das sogenannte Primer-Annealing. Die spezifischen Primer lagern bei Temperaturen zwischen 57 und 62 °C an der Matrize an. Abschließend folgt die Phase der Elongation. Die thermostabile DNA-Polymerase und dNTPs verlängern die Primer bei 72°C. Diese drei Schritte werden 35 bis 40-mal wiederholt. Die Vervielfältigung erfolgt exponentiell. Zur Quantifizierung der gebildeten cDNA wurde der Fluoreszenzfarbstoff SYBR Green 1 eingesetzt, welcher in der doppelsträngigen DNA eingelagert wird. Die Intensität der Fluoreszenz wurde nach jedem Amplifikationszyklus gemessen, so dass die Vervielfältigung des Zielgenes in Echtzeit beobachtet werden kann.

Der eingesetzte Mastermix bestehend aus dem Fluoreszenzfarbstoff-DNA Polymerase Mix KAPA SYBR®FAST qPCR Master Mix Universal, sequenzspezifischer Vorwärts- und Rückwärtsprimer und DEPC-Wasser ist in Tabelle 11 dargestellt und wurde mit einem Gesamtvolumen von 8 µL mit 2 µL cDNA eingesetzt. Durch die Messung der Fluoreszenzintensität kann die gebildeten cDNA quantifiziert werden. Der Farbstoff lagert sich an der DNA an und nimmt mit jeder Amplifikation an Intensität zu. Die Darstellung der C_t-Werte (*cycle threshold*) erfolgte mit Hilfe der Software „Rotor Gene Q“.

Als Neaktivkontrolle wurden für jeden Lauf zwei NTCs (*noe template control*) mitgeführt. Anstelle der cDNA wurden 2 µL DEPC-Wasser zu 8 µL Master Mix hinzugegeben.

Tabelle 9: Zusammensetzung Mastermix für qPCR

Reagenzien	Volumen pro Probe (µL)
DEPC-Wasser	2,6
Primer (forward)	0,2
Primer (reverse)	0,2
KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix Universal	5

Abk.: DEPC-Wasser = Diethylpyrocarbonat-Wasser.

4.9.8 Primerdesign und Normalisierung

Zur Gewährleistung einer hohen Spezifität und Effizienz der Primer wurden das Primerdesign mit Hilfe des Softwareprogrammes Primer-BLAST, welches auf Basis der NCBI-Datenbank (*National Center for Biotechnology Information*) arbeitet, durchgeführt. Für qualitative Ergebnisse der PCR ist die Auswahl der Primer ausschlaggebend (Ye et al. 2012). Die Primerpaare wurden derart gestaltet, dass diese über eine Größe von 20 Basenpaaren verfügten und eine Produktgröße von 80 bis 250 Basenpaaren erzeugten. Die optimale Schmelztemperatur betrug 62°C, mit einer maximalen Temperaturdifferenz der Primerpaare von 1°C. Außerdem wurden die Primer Intron-überspannend designt. Die Qualität der Primer wurde zusätzlich der Software „Beacon Designers“ der Firma Premier Biosoft sowie die Sekundärstrukturen des Produktes in der Software „UNAFold“ der Firma Integrated DNA Technologies (IDT) überprüft (Thornton und Basu, 2010). Die Normalisierung erfolgt mittels Referenz- oder Haushaltsgenen, welche in allen Gewebetypen und Zellen gleichermaßen ausgeprägt sind. Für die Ermittlung der Expressionsstabilität (M-Wert) wurde, die auf Microsoft Office Excel-basierende Software „geNorm“, verwendet. Idealerweise liegt der M-Wert unter 1,5. In Tabelle 10 sind die Expressionsstabilitäten der verwendeten Referenzgene dargestellt.

Tabelle 10: Expressionsstabilität der verwendeten Referenzgene

Referenzgen	NCBI Gene Bank	M-Wert
<i>ATP5B</i>	NM_134364.1	0,466
<i>CANX</i>	NM_172008.2	0,355
<i>RPL13</i>	NM_031101.1	0,415

Abk.: *ATP5B* = ATP synthase, H⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide. *CANX* = calnexin. *RPL13* = ribosomal protein L13

4.9.9 Primereffizienz

Idealerweise wird während der PCR das Produkt pro Zyklus verdoppelt, dann erhält die Primer-Effizienz einen Wert von 2. Zur Ermittlung der Primer-Effizienz wurde eine Verdünnungsreihe aus einer Pool-Probe, bestehend aus allen 48 Proben, angefertigt. Die Verdünnung erfolgte in fünf Stufen (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 und 1:32) mit DEPC-Wasser. Die ermittelten C_T-Werte werden gegen den dekadischen Logarithmus der Verdünnungsreihe aufgetragen und die Steigung der resultierenden Gerade ermittelt. Nach der folgenden Gleichung kann schließlich die Effizienz der Primer berechnet werden:

$$\text{Effizienz} = 10^{-1/\text{Steigung}}$$

In den Tabellen 11 und 12 sind die Eigenschaften der verwendeten Primer für Referenz- und Zielgene dargestellt.

Tabelle 11: Eigenschaften der verwendeten Primer der Referenzgene

Gene ¹	Steigung	R ²	Effizienz	Primer forward (von 5` nach 3`) Primer reverse (von 5` nach 3`)	Annealing- Temperatur (°C)	PCR Produkt Größe in Basenpaare (bp)	NCBI GeneBank
<i>ATP5B</i>	-3,38	0,998	1,98	GCACCGTCAGAACTATTGCT GAATTCAGGAGCCTCAGCAT	57	203	NM_134364.1
<i>CANX</i>	-3,40	0,997	1,97	CCAGATGCAGATCTGAAGAC CTGGGTCCTCAATTTACGT	60	175	NM_172008.2
<i>RPL13</i>	-3,31	0,996	2,01	CTTAAATTGGCCACGCAGCT CTTCTCAACGTCTTGCTCTG	58	198	NM_031101.1

¹*ATP5B* = ATP synthase, H⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide. *CANX* = calnexin. *RPL13* = ribosomal protein L13

Tabelle 12: Eigenschaften der verwendeten Primer der Zielgene

Gene ¹	Steigung	R ²	Effizienz	Primer forward (von 5` nach 3`) Primer reverse (von 5` nach 3`)	Annealing- Temperatur (°C)	PCR Produkt Größe in Basenpaare (bp)	NCBI GeneBank
<i>ACACA</i>	-3,42	0,997	1,96	TACAACGCAGGCATCAGAAG TGTGCTGCAGGAAGATTGAC	59	244	NM_022193.1
<i>ACADL</i>	-3,42	1,000	1,96	GAGAAACATGGCGGCATCGG CAATACTTGCCCGCCGTC	60	190	NM_012819.1
<i>ACADM</i>	-3,24	0,998	2,04	CAAGAGAGCCTGGGAAGTTG CCCCAAAGAATTTGCTTCAA	60	154	NM_016986.2
<i>ACADS</i>	-3,33	0,998	2,00	ACATCTCTCCCCACATCGC CCGAAGTTCAGGATGGGTCC	60	204	NM_022512.2

Material und Methoden

<i>ACLY</i>	-3,54	0,994	1,92	TCAGTCCCAAGTCCAAGATCCC ACGGGTAGACCATAGCAGCC	60	166	NM_016987
<i>ACOT1</i>	-3,59	0,999	1,90	AGTCATGGGGTGTCCCCTAAAAT TGTGCTCTTTCCCTTACAGCAC	60	257	NM_031315.2
<i>ACOX1</i>	-3,30	0,994	2,01	CTCAGCAGGAGAAATGGATGCG TCCTTGAGTGATGAGCTGAGCC	60	239	NM_017340.2
<i>ACOX2</i>	-3,38	0,986	1,98	GAACGCCTGTTTGAGTGGGC TGTCTCCAGCCGAGCATCAG	60	134	NM_145770.2
<i>AHCY</i>	-3,54	0,999	1,91	CCACACCAAACACCCACAGC CCACCTTGCCCGCAATCATC	60	230	NM_017201.1
<i>ALDH9A1</i>	-3,26	0,996	2,03	TGACCTCGCTCCTCCGCGTA TTGAGCGGCTGCGACACGAC	60	82	NM_022273.2
<i>ASPN</i>	-3,19	0,988	2,06	CCACACAGAGCCTGGTAGGAG TGCTGTCCCGTGTACAAGTCC	60	196	NM_001014008
<i>BBOX1</i>	-3,72	0,998	1,86	AGCTGACAAACGTGGCGAGA GGTGGAGGGCTGGGTAATCTG	60	164	NM_022629.1
<i>BHMT</i>	-3,58	0,998	1,90	GTTGAAGAAGCCGTGTGGGC AGTGGCAGTTCACACCGACA	60	166	NM_030850.1
<i>CACT</i>	-3,25	0,985	2,03	AGCCCACCTGTTATCCACTG TGTGCAAAAAGAGCCTTCCT	60	178	NM_053965.2
<i>CAR3</i>	-3,35	0,995	1,99	GGCCCTCTCTCTGGACCCTA AATCCCATCGGGCTGCTTCA	60	177	NM_019292
<i>CBS</i>	-3,48	0,999	1,94	GCCAGATTCGATTCCCCCGA TGAAGCCACCAGCATGTCCA	60	180	NM_12522.2
<i>CHDH</i>	-3,58	0,994	1,90	CCTGGAGCCAGACAGAGCAG CTCTCCACGGACACGAGTGG	60	189	NM_198731.2
<i>CPT1A</i>	-3,53	0,997	1,92	ACCGCCATCTCTTCTGCCTC CTGCTGAGGAGTCTGGCTCG	60	116	NM_031559.2
<i>CTH</i>	-3,46	0,999	1,94	ACTGGATGGGGCAAAGCACT AAACTCGGATGCCACCCTCC	60	154	NM_017074.1
<i>CYP7A1</i>	-3,49	0,993	1,94	TTCCTGCAACCTTTTGGAGC TCAGAGGCTGCTTTCATTGC	62	67	NM_012942.2

Material und Methoden

<i>DMGDH</i>	-3,60	0,998	1,90	TGGGATGGGAGCTGTACCAC GCTTCCCTGTGAAGTTGGCTG	60	234	NM_139102.2
<i>ELOVL5</i>	-3,38	0,995	1,98	ATGAACTGGGTTCCCTGCGG GGAAGGGACAGAGGACAGGC	60	102	NM_134382.1
<i>ELOVL6</i>	-3,58	0,999	1,90	AAGTTTGAAGTGCAGGAAAGCCG CACCTAGTTCGGGTGCTTTGC	60	211	NM_134383.2
<i>FADS1</i>	-3,57	0,998	1,91	CATTTCCAGCACCCACGCCAA TAGAGAGGCAGCAAGGCTGG	60	188	NM_053445.2
<i>FADS2</i>	-3,58	0,995	1,90	CATCGACCGCAAGGTCTACAAC CTTGCCCACGAAATCCAGGTC	60	139	NM_031344.2
<i>FASN</i>	-3,27	0,997	2,02	AGGTGCTAGAGGCCCTGCTA GTGCACAGACACCTTCCCAT	60	281	NM_017332.1
<i>FATBP2</i>	-3,26	0,999	2,03	AGGAGCTGATTGCTGTCCGA GCTAGCCCTTCTGCATTGCG	60	138	NM_198738.2
<i>G6PD</i>	-3,50	0,997	1,93	TTGTACCAGGGTGATGCCTTCC GCTCACTCTGTTTGC GGATGTC	60	199	NM_017006.2
<i>GAMT</i>	-3,30	0,994	2,01	AAGAGACCTGGCACACTCACC GGCACCTGAGTCTCCTCAAACA	60	163	NM_012793.2
<i>GNMT</i>	-3,34	0,998	1,99	CCAGTATGCGGATGGGGAGG GCATCTTGTCGCTGGCATCC	60	215	NM_017084.2
<i>GPAM</i>	-3,48	0,999	1,94	CAGCGTGATTGCTACCTGAA CTCTCCGTCCTGGTGAGAAG	60	194	NM_017274.1
<i>GPX3</i>	-3,22	0,995	2,05	CCATGGCGGTATGAGCGGTA CCCAGAATGACCAGGCCGAA	60	198	NM_022525
<i>GSTM3</i>	-3,48	1,000	1,94	AGTCCATCCCGGAGAAGATGAAA CAGGTCTTGGGAGAAAGCTGC	60	237	NM_020540.1
<i>HAL</i>	-3,36	0,999	1,99	GCTCCGTAGTAAGGCCCTGG CGTGTTGGAGAAAGCGGTC	60	164	NM_017159
<i>HMGCR</i>	-3,38	0,998	1,98	TGGCAGGACGCAACCTCTAC GGCAGCAGGTTTCTTGTCGG	60	173	NM_013134.2
<i>HSD17B2</i>	-3,21	0,999	2,05	AGTCGTGACCATCCATCCTGG TCTTGGCACAAATGGCGTGC	60	230	NM_024391

Material und Methoden

<i>INSIG1</i>	-3,40	0,998	1,97	GCAGCAGTAAGTTGGAGGAA CTGGAGTGACAGAGACACAA	60	309	NM_022392.1
<i>LDLR</i>	-3,48	0,998	1,94	ACAGTGTCCCAAGTCCAA GCAAATGTGGATCTCGTCCTC	60	222	NM_175762.2
<i>LOC100360095</i>	-3,49	1,000	1,94	AGAGCTGTGCTGAGTGCTCC CTGGCATGCTCCAGTGTCAAG	60	166	NM_001257095.1
<i>LSS</i>	-3,33	0,997	2,00	CACGAGTTCCTGCGGCTTTC GCGTCACAACGATCCAGC	60	126	NM_031049
<i>MAT1A</i>	-3,59	0,999	1,90	CTACCAGCGGGTGGTGAGAG TCTCGTCAGTGGCATAGCCG	60	203	NM_012860.2
<i>MT1A</i>	-3,36	0,997	1,98	ACTGCCTTCTTGTCGCTTACA TCTTCTTG CAGGAGGTGCATT	60	144	NM_138826.4
<i>MT2A</i>	-3,46	0,998	1,94	TCTGCAAAGAGGCTTCGGACA AAGTGTGGAGAACCGGTCAGG	60	127	NM_001137564.1
<i>MTR</i>	-3,21	0,999	2,05	GAGTCGCCTGCGGTAGGATT CATCCCGCCATCTAGCACCA	62	161	NM_030864.1
<i>MTRR</i>	-3,21	0,999	2,02	GCCTGTTCTATCGCCTGCAAC ATGCTGGAGTTCCCAGTCGC	60	88	NM_001047842.1
<i>MUP5</i>	-3,49	0,990	1,93	TTCCTTAGGCTTCAAGTTTCATA TCAGATCCTTTGTTCTGCCTA	55	230	NM_203325.1
<i>NR1H3</i>	-3,51	0,996	1,93	CCGCAGTGCCTGATGTTTCTC TCCGCTTCTGTGGACGAAGTT	60	228	NM_022941.4
<i>OCTN2</i>	-3,19	0,988	2,06	GAACTCACGAGCCTCGCACGC TCGTCGTAGTCCCCGCATGCC	64	117	NM_019269.1
<i>PDK4</i>	-3,23	0,993	2,04	GGAGTATCGACCCCAACTGC GGCGGTTTTCTTGATGCTCG	60	237	NM_053551.1
<i>PEMT</i>	-3,55	0,998	1,91	GAGCAGAGAACTCGCAAGCTG GCACAAACACGAGTCCCCAG	60	208	NM_013003.1
<i>PRMT1</i>	-3,39	0,991	1,97	GCATCATGGAGGTTTCTGTGG AGGGTTCGCACCTCATCCTTT	60	142	NM_024363.1
<i>PSAT1</i>	-3,51	0,997	1,93	GCTGCCGTA CT CGGTATTGTT TAAGGGGACGGCACTGAACT	60	217	NM_198738.2

Material und Methoden

<i>S100A11</i>	-3,59	0,999	1,90	CTTCATGAACACGGAGCTGGC ACGCTTCTGGGAAGTCTGGAG	60	184	NM_001004095
<i>SARDH</i>	-3,19	0,986	2,06	AGAATCCCATGTGCTGAGCC AGGGTCCCATAGAGGTCGTC	60	78	NM_053664.2
<i>SCD2</i>	-3,30	0,994	2,01	TGCACCCCCAGACACTTGTA GGATGCATGGAAACGCCATAG	60	94	NM_031841.1
<i>SHMT1</i>	-3,56	0,997	1,91	GCCTGCAACAAGAATACCTGC GCACTCTGGAACCTTCTCATCCC	60	236	NM_001047842.1
<i>SHMT2</i>	-3,54	0,999	1,92	ACCTCGGCTCATCATAGCTGG TGGTGACGATGTCCGCATACTT	60	176	NM_001008322.1
<i>SQLE</i>	-3,30	0,998	2,01	TGTTGTGAACGTGTGCTGGCTC AAGTTTTTCGGAGCTGACGC	60	80	NM_017136
<i>UBD</i>	-3,26	0,994	2,02	GACATGGCTTCCTGCGTCTG GCACAGAGACCTTGGTTTGGG	60	127	NM_053299.2
<i>UST5R</i>	-3,28	0,986	2,02	CCCAAATGGTTGTCATGACCCTG ATCATAAACAGGGGTGCCAGGAA	60	241	NM_134380

¹*ACACA* = acetyl-CoA carboxylase- α . *ACADL* = acyl-CoA dehydrogenase, long chain. *ACADM* = acyl-CoA dehydrogenase(C-4 to C-12 straight chain). *ACADS* = acyl-CoA dehydrogenase short chain. *ACLY* = ATP-citrate lyase. *ACOT1* = acyl-CoA thioesterase 1. *ACOX1* = acyl-CoA-oxidase 1. *ACOX2* = acyl-CoA-oxidase 2. *AHCY* = adenosylhomocysteinase. *ALDH9A1* = aldehyde dehydrogenase 9 family, member A1. *ASPN* = asporin. *BBOX1* = gamma-butyrobetaine hydroxylase 1. *BHMT* = betaine-homocysteine S-methyltransferase. *CACT* = carnitine-acylcarnitine translocase. *CAR3* = carbonic anhydrase 3. *CBS* = cystathionine-beta-synthase. *CHDH* = choline dehydrogenase. *CPT1A* = carnitine palmitoyltransferase 1a. *CTH* = cystathioninegamma-lyase. *CYP4A1* = cytochrome P450 4A1. *CYP7A1* = cytochrome P450 7A1. *DMGDH* = dimethylglycine dehydrogenase. *ELOVL5* = fatty acid elongase 5. *ELOVL6* = fatty acid elongase 6. *FADS1* = fatty acid desaturase 1. *FADS2* = fatty acid desaturase 2. *FASN* = fatty acid synthetase. *FATBP2* = fatty acid transport binding protein 2. *G6PD* = glucose-6-phosphate dehydrogenase. *GAMT* = guanidinoacetate N-methyltransferase. *GNMT* = glycine N-methyltransferase. *GPAM* = glycerol-3-phosphate acyltransferase. *GPX3* = glutathione peroxidase. *GSTM3* = glutathione S-transferase mu 3. *HAL* = histidine ammonia-lyase. *HMGCR* = 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase. *HSD17B2* = hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 2. *INSIG1* = insulin-induced gene 1 protein. *LDLR* = low density lipoprotein receptor. *LOC100360095* = urinary protein 1-like. *LSS* = lanosterol synthase. *MAT1A* = methionine adenosyltransferase 1A. *MTR* = 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase. *MTRR* = 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase. *MT1A* = metallthionin 1A. *MT2A* = metallthionin 2A. *MUP5* = major urinary protein 5. *NR1H3* = nuclear receptor subfamily 1, group H, member 3. *OCTN2* = organic cation transporter number 2. *PDK4* = pyruvate dehydrogenase kinase 4. *PEMT* = phosphatidylethanolamine N-methyltransferase. *PRMT1* = protein arginine methyltransferase 1. *PSAT1* = phosphoserine aminotransferase 1. *S100A11* = S100 calcium binding protein A11. *SARDH* = sarcosine dehydrogenase. *SCD2* = stearyl-Coenzyme A desaturase 2. *SHMT1* = serine hydroxymethyltransferase 1. *SHMT2* = serine hydroxymethyltransferase 2. *SQLE* = squalene epoxidase. *UBD* = ubiquitin d. *UST5R* = integral membraprotein.

4.9.10 DNA-Gelelektrophorese

Die Überprüfung der Größe und Qualität der PCR-Produkte erfolgte mit Hilfe von DNA-Gelelektrophorese. Hierfür wurden 1,5%ige Agarosegele eingesetzt. Es wurden 2,25 g Agarose in 150 mL 1x TAE-Puffer gelöst. Die Lösung wurde bis zur völligen Aufklärung der Lösung erhitzt und anschließend auf 65°C abgekühlt. Nach der Abkühlung wurden 3 µL GelRed™Nucleic Acid Gel Stain zugegeben und das Gel wurde gegossen und ausgehärtet. Während einer 30-minütigen Aquilibrierung des Gels wurden die Proben mit jeweils 4 µL Ladepuffer (5x Green GoTaq®FlexiBuffer) versetzt und auf das Gel aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte für 90 Minuten bei 120 V. Nach Abschluss der Gelelektrophorese erfolgte die Detektion unter UV-Licht (GeneFlash).

4.10 Bestimmung der Triglycerid-Konzentrationen im Plasma und in der Leber

Zur Bestimmung der Triglycerid-Konzentrationen im Plasma wurde zunächst das Plasma im Thermoblock bei 37°C aufgetaut, anschließend kurz gemischt und mit Hilfe des Fluitest® TG (Analyticon, Katalog-Nr. B9001, B9003) der Triglyceridgehalt fotometrisch bei 500 nm bestimmt.

Für die Triglycerid-Konzentrationsbestimmung in der Leber wurden 100 mg Leber in ein 2 mL-Reaktionsgefäß eingewogen. Den Proben wurde eine Edelstahlkugel und 1 mL Hexan-Isopropanol (3:2, Hara Radin 1978) hinzugegeben und für drei Minuten bei 30 Hz im TissueLyser homogenisiert und extrahiert. Anschließend wurden die Proben für 30 Minuten ins Ultraschallbad gestellt und zehn Minuten bei 4500 U · min⁻¹ und 15°C zentrifugiert. Nachdem die Proben auf Raumtemperatur gebracht wurden, wurde der Überstand mit einer Pasteur-Pipette in ein 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt. Für die fettleibigen Tiere wurden 25 µL und für die schlanken Tiere 50 µL unter Stickstoff, im Thermoblock bei 37°C, eingedampft und mit 300 µL (fettleibige Tiere) bzw. 50 µL (schlanke Tiere) Isopropanol wiederaufgenommen und kräftig gemischt. In einer Dreifachbestimmung wurden 5 µL in eine Wellplatte pipettiert und fotometrisch bei 500 nm der Triglycerid-Gehalt bestimmt. Hierfür wurde ebenfalls der Fluitest® TG von Analyticon verwendet. Während der Messungen wurde reines Reaktionsreagenz als Blindwert sowie die vom Hersteller mitgelieferte Kontrolle „Contronorm“ mitgeführt.

4.11 Bestimmung von Cholesterin im Plasma und in der Leber

Die Bestimmung des Cholesterins im Plasma erfolgte mit Hilfe des Fluitest® CHOL (Analyticon, Katalog-Nr. 4248, 4241), nach Angaben des Herstellers. Hierfür wurden die Plasma-Proben zunächst im Thermoblock bei 37°C aufgetaut und kurz gemischt. Die Messung erfolgte fotometrisch bei 500 nm.

Für die Bestimmung des Cholesteringehaltes in der Leber wurden 100 mg Leber in ein 2 mL-Reaktionsgefäß eingewogen. Homogenisierung und Extraktion erfolgte analog zur Bestimmung der Triglyceride in der Leber. Für die fettleibige Kontrollgruppe wurden 100 µL, für die beide fettleibigen Untersuchungsgruppen jeweils 200 µL und für die schlanke Kontrollgruppe 400 µL unter Stickstoff bei 37°C im Thermoblock eingedampft. Alle Proben wurden mit 100 µL Isopropanol wiederaufgenommen und kräftig gemischt. In einer Dreifachbestimmung wurden 5 µL in ein Reaktionsgefäß pipettiert und fotometrisch bei 500 nm der Cholesteringehalt, mit Hilfe des Fluitest® CHOL von Analyticon bestimmt.

4.12 Bestimmung von Homocystein im Plasma und in der Leber

Die Bestimmung von Homocystein im Plasma erfolgte nach Nolin et al. 2007. Hierfür wurden 50 µL Plasma mit 10 µL TECP für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, um Disulfidbrücken zu reduzieren und so das Gesamt-Homocystein messen zu können. Anschließend wurden 90 µL 10%ige TCA-Lösung (mit 1 mM EDTA) hinzugegeben, gemischt und für zehn Minuten bei 14.000 g zentrifugiert. TCA fällt die Proteine der Proben aus. Der Überstand wurde in ein weiteres Reaktionsgefäß überführt. Es folgt die Derivatisierung mit 50 µL des Überstandes, 10 µL ,55 M NaOH, 125 µL Boratpuffer und 50 µL der SBD-F-Lösung. Die Reaktion inkubierte für 60 Minuten bei 60°C. Die Messung erfolgte an einem HPLC-System mit einer reversen Säule und einem Fluoreszenzdetektor. In Tabelle 13 sind die HPLC-Parameter dieser Bestimmung gelistet.

Tabelle 13: HPLC-Parameter der Bestimmung von Homocystein, Cystein und GSH

HPLC-Komponente	Einstellung
Säule	Nucleodur C18 Gravity-SB, 3 µm, 3 x 100 mm
Fließmittel	Eluent A und B
Injektionsvolumen	25 µL
Fließrate	0,8 mL/min
Temperatur	30°C
Analysezeit	13 min
Retentionszeiten	Cystein: 1,7 min Homocystein: 2,75 min GSH: 5,5 min

Abk.: GSH = Glutathion; Eluent A: 0,1% Ameisensäure, 0,1% Perfluorpentansäure, 4 mM Ammoniumacetat, pH 2,5; Eluent B: 100% Acetonitril

Leberproben wurden im Verhältnis 1:4 mit eiskalter PBS-Lösung homogenisiert (Sun et al. 2016) und zentrifugiert. Mit dem Überstand wurde entsprechend der Plasmaproben nach Nolin et al. 2007 verfahren.

4.13 Bestimmung von S-Adenosyl-Methionin, S-Adenosyl-Homocystein und Methionin in der Leber

Die Bestimmung der Parameter Methionin, S-Adenosyl-Methionin (SAM) und S-Adenosyl-Homocystein (SAH) erfolgte in der Leber nach der Methode von Burren et al. (2006). Hierfür wurden 100 mg Leber eingewogen und in 500 µL eiskaltem Eluent A (0,1% Ameisensäure, 0,1% Perfluorpentansäure, 4 mM Ammoniumacetat, pH 2,5) für 45 Sekunden bei 30 Hz homogenisiert. Das Homogenat wurde für fünf Minuten bei 80°C erhitzt, um störende Proteine zu fällen. Nach einer zwei-minütigen Kühlung wurden die Proben bei 14.000 g und 5°C für 15 Minuten zentrifugiert. 50 µL Probe wurden mit 50 µL internem Standard (12,8 µM SAH-D4 und 100 µM Methionin-D3 in Eluent A) gemischt und in ein LC-MS/MS-System zur chromatografischen Auftrennung und Detektion gegeben. Die HPLC-Parameter der Bestimmung sind in Tabelle 14 aufgeführt.

Tabelle 14: HPLC-Parameter der Bestimmung von Methionin, SAM und SAH

HPLC-Komponente	Einstellung
Säule	Waters Y Select HSS T3; 2,5 µm; 2,1 x 100 mm
Vorsäule	Nucleodur Polartec EC; 3 µm; 4 x 3 mm
Fließmittel	Eluent A und B
Injektionsvolumen	10 µL
Fließrate	0,4 mL/min
Temperatur	35°C
Analysezeit	10 min
Retentionszeiten	SAH: 3,5 min SAM: 5,2 min Methionin: 5,5 min

Abk.: SAH = S-Adenosyl-Homocystein; SAM = S-Adenosyl-Methonin; Eluent A: 0,1% Ameisensäure, 0,1% Perfluorpentansäure, 4 mM Ammoniumacetat, pH 2,5; Eluent B: 100% Acetonitril

4.14 Bestimmung von Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin als Vorstufen von Carnitin im Plasma, der Leber und im *M. rectus femoris*

Bei -20°C gelagerte Plasmaproben wurden auf RT aufgetaut. Dann wurden die Proben bei 600 g für fünf Minuten und bei 4°C zentrifugiert. Es wurden 20 µL der Probe in ein 1,5 mL-Reaktionsgefäß pipettiert und mit 100 µL internem Standard in Methanol versetzt und gewhirlt. Das Methanol dient hierbei der Ausfällung der Proteine. Zur Abtrennung der Proteine wurden die Proben für fünf Minuten auf Eis gestellt, anschließend wurden die Proben bei 20.000 g, bei 4°C für zehn Minuten zentrifugiert. Von dem Überstand wurden 75 µL entnommen und in ein Mikro-Vial überführt. Die Bestimmung von γ -Butyrobetain und Trimethyllysin erfolgte am Tandem-Massenspektrometer, in einer Doppelbestimmung nach der modifizierten Methode nach Hirche et al. (2009). In Tabelle 15 sind die HPLC-Parameter der Bestimmung von Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin dargestellt.

Tabelle 15: HPLC-Parameter der Bestimmung von Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin

HPLC-Komponente	Einstellung
Säule	Kromasil 100 Si-Säule, 5 μ m; 2 x 125 mm
Vorsäule	Silicia 2 x 4 mm
Fließmittel	MeOH + H ₂ O + ACN + Ameisensäure (100 + 90 + 9 + 0,2)
Injektionsvolumen	3 μ L
Fließrate	0,5 mL/min
Temperatur	40°C

Abk.: MeOH = Methanol; ACN = Acetonitril; BB = γ -Butyrobetain; TML = Trimethyllysin

Für die Bestimmung von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin, γ -Butyrobetain (BB) und Trimethyllysin (TML) in der Leber und im *M. rectus femoris* wurden etwa 100 mg der Gewebeproben in ein 2 mL-Reaktionsgefäß eingewogen und gefriergetrocknet. Zur Extraktion der Proben wurden 0,5 mL Methanol/Wasser (1+2) zugegeben, mit einer Edeltstahlkugel versehen und die Proben im TissueLyser für vier Minuten bei 30 Hz homogenisiert. Im Anschluss wurden die Proben im Ultraschallbad für 20 Minuten inkubiert. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurden die Proben für zehn Minuten bei 10°C und 21000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt. 40 μ L des Überstandes wurden mit 200 μ L internem Standard in Methanol versetzt und zwei Minuten auf dem Probenmixer gewhirrt. Das restliche Gewebsextrakt wurde für mögliche Wiederholungsmessungen bei -20°C eingefroren. Nach dem Whirlen inkubierten die Proben für zehn Minuten im Kühlschrank. Anschließend wurden die Proben bei 21.000 g für zehn Minuten bei 15°C zentrifugiert. 75 μ L des Überstandes wurden in Mikro-Vials überführt und die Bestimmung von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin, γ -Butyrobetain (BB) und Trimethyllysin (TML) erfolgte am Tandem-Massenspektrometer.

4.15 Metabolom-Analyse

Eine Metabolom-Analyse wurde von der Firma BIOCRATES Life Science AG in Innsbruck, Österreich durchgeführt, dabei wurde das Absolute/DQ® p180 Kit angewandt. Im Rahmen dieser Analyse konnten 21 Aminosäuren, 40 Acylcarnitine, 15 Sphingolipide, 90 Glycerophospholipide sowie die Summe aller Hexosen (Monosaccharide) im Plasma bestimmt werden.

4.16 Oil Red O Färbung O der Leber

Für eine histologische Untersuchung der Leber wurde eine triglycerid-färbende Oil Red O Färbung durchgeführt. Für die Oil Red O Färbung wurden zunächst 5 x 5 x 5 mm große Leberproben zugeschnitten und rasch in flüssigem Stickstoff eingefroren und mit Hilfe von Tissue-Tek® fixiert. Die 15 µm Schnitte wurden bei -20°C im Kryotom (Microm HM 500) gefertigt, auf Objektträger gegeben und bei Raumtemperatur getrocknet. Bis zur Färbung wurden die Schnitte bei -20°C gelagert. Die Färbung erfolgte, unter zu Hilfenahme des Oil Red O Stain Kit (For Fat), nach Herstellerangaben. Zunächst wurden die Proben mit einer 10-minütigen Inkubation mit Formalin fixiert. Es folgt ein Waschschriff mit destilliertem Wasser und eine 20-minütige Trocknung bei Raumtemperatur. In einem weiteren Schritt wurde Propylenlykol für fünf Minuten auf die Proben gegeben und schließlich die Oil Red O-Lösung über Nacht bei Raumtemperatur. Am folgenden Tag erfolgte eine weitere Inkubation mit Propylenlykol für eine Minute. Die Objektträger wurden zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen und zur Darstellung der Gewebestrukturen für zwei Minuten mit Hematoxilin gefärbt. Nach zweimaligem Waschen mit destilliertem Wasser wurde ein Deckgläschen platziert und die Proben wurden mikroskopiert und fotografiert. Die Bilder der gefärbten Schnitte wurden mit einem Leica DM5500 B Mikroskop, einer Leica DFC320 Digitalkamera und der LAS AF Mikroskop Software gefertigt.

4.17 Quantifizierung von SREBP-1 und SREBP-2

Zur Quantifizierung der Transkriptionsfaktoren wurden ein Western Blot durchgeführt. Diese Methode geeignet sich zur Auftrennung von Proteingemischen und zur anschließenden Quantifizierung einzelner Proteine. Die Auftrennung erfolgt im Polyacrylamidgel durch Elektrophorese. Die aufgetrennten Proteine werden anschließend auf eine Nitrocellulose-Membran übertragen und mit Antikörpern behandelt. Die Quantifizierung erfolgt schließlich durch Chemilumineszenz. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Transkriptionsfaktoren nSREBP-1 und nSREBP-2 untersucht. Als Referenzprotein wurden Histon H1 eingesetzt.

4.17.1 Proteinextrakt RIPA

Zur Herstellung des Proteinextraktes für den Western Blot wurden 200 mg Leber eingewogen und mit 600 µL RIPA-Puffer (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 10% Glycerol, 0,1% SDS, 1% Triton-X-100, 1 mM EDTA, 0,5% Desoxycholat) im TissueLyzer für 3 Minuten bei 30 Hz

homogenisiert. Nach einer einstündigen Inkubationsphase auf Eis wurden die Proben bei 21000 g und 4°C für 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde überführt und bei -80°C gelagert.

4.17.2 Bestimmung der Proteinkonzentration

Zur Bestimmung der Proteinkonzentration wurde das BC Assay Protein Quantitation Kit, nach Herstellerangaben, verwendet. Das Assay ist ein kolorimetrisches Assay, bei dem Cu^{2+} -Ionen durch Proteine zu Cu^+ -Ionen reduziert werden. Cu^+ -Ionen bilden mit Bicinchoninsäure einen Farbkomplex. Die Absorption kann fotometrisch gemessen werden und ist proportional zur Protein-Konzentration. Mit Hilfe einer Eichkurve eines Standardproteins (*Bovine Serum Albumine*, BSA) kann die Protein-Konzentration der zu bestimmenden Proben berechnet werden. Die BSA-Eichkurve mit unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt (0, 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$). Es wurden je 25 μL der Standards und der zuvor verdünnten Proben in die Kavitäten einer 96-Wellplatte pipettiert und mit 200 μL Reaktionslösung (BCA: CuSO_4 = 50:1, v:v) versetzt. Es folgte eine Inkubation von 30 Minuten bei 37°C. Die Absorption wurde am Tecan bei einer Wellenlänge von 562 nm gemessen.

4.17.3 SDS-Page

Die Auftrennung des RIPA-Proteingemisches erfolgte mittels Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-Page). Hierfür wurde ein 10%iges Trenngel und ein Sammelgel, mit eingesetztem Kamm zur Bildung der Probenaschen, erzeugt. In den Tabellen 16 und 17 sind die Zusammensetzungen von Trenn- und Sammelgel dargestellt. Es wurden 30 μg des Proteins in 10 μL verdünnt und mit 5 μL Roti-Load®-Puffer für fünf Minuten bei 95°C denaturiert und in die Probenaschen gegeben. Als Leiter, zur Identifizierung der aufgetrennten Proteine, wurde PageRuler™ Prestained Protein Ladder verwendet. Für die Elektrophorese wurde Laufpuffer eingesetzt. Bis die Lauffront das Trenngel erreicht hatte, erfolgte die Elektrophorese mit einer Spannung von 120 V und einer Stromstärke von 30 mA. Im Trenngel erfolgte die Elektrophorese mit einer Spannung von 145 V und einer Stromstärke von 35 mA.

Tabelle 16: Zusammensetzung des Trenngels

Je zwei Trenngele in μL	
Acrylamid	2500
Trenngelpuffer	250
Wasser	4900
SDS (10%)	100
APS	100
TEMED	4

Abk.: SDS = Sodium Dodecylsulfat; APS = Ammoniumperoxydisulfat; TEMED = N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin

Tabelle 17: Zusammensetzung des Sammelgels

Je zwei Sammelgele in μL	
Acrylamid	300
Sammelgelpuffer	750
Wasser	1900
SDS (10%)	30
APS	30
TEMED	4

Abk.: SDS = Sodium Dodecylsulfat; APS = Ammoniumperoxydisulfat; TEMED = N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin

4.17.4 Blotting

Unter „Blotting“ versteht man die Übertragung der aufgetrennten Proteine von dem Gel auf eine Nitrocellulosemembran. Hierfür wurde das Blotting-Sandwiches, bestehend aus dem Gel, der Membran und Filterpapiere, im Transferpuffer erstellt und die Übertragung erfolgte bei einer Spannung von 100 V und einer Stromstärke von 300 mA für 90 Minuten. Zur Überprüfung einer erfolgreichen Proteinauftrennung und Proteinübertragung erfolgte die Färbung mit Ponceau S. Die Ponceau S-Färbung wurde fotografiert und eine gleichmäßige Beladung mit Hilfe der Bildbearbeitungssoftware „ImageJ“ kontrolliert. Die Ponceau S-Färbung wurde mit Hilfe von 1x Tris-Buffered-Saline-Tween (TBST) von der Membran gewaschen. Über Nacht erfolgt das Blocken mit 5%igem Milchpulverpuffer bei 4°C auf einer Schwenkplatte.

Der Western Blot ist ein immunologischer Nachweis ausgewählter Proteine. Im Rahmen dieser Dissertation wurden die nukleären, reifen Formen der Transkriptionsfaktoren SREBP1 und

SREBP2 untersucht. Zur Normalisierung wurde als Referenzprotein Histone H1 eingesetzt. Die verwendeten Antikörper sind in Tabelle 18 dargestellt. Die Inkubation der Primärantikörper für SREBP1, SREBP2 und Histone H1 erfolgte bei 4°C auf einer Schwenkplatte über Nacht. Nach dreimaligem zehnmütigem Waschen der Membran mit TBST wurde die Membran für zwei Stunden mit dem Sekundärantikörper behandelt.

Tabelle 18: Verwendete Antikörper für den Western Blot

Protein	Primär Antikörper	Sekundär Antikörper
SREBP1	Rabbit polyclonal Anti-SREBP1 Sc-8984 (Santa-Cruz Biotechnology, Heideberg) Verdünnung 1:40.000 1:500	Rabbit polyclonal Verdünnung 1:10.000
SREBP2	Rabbit polyclonal Anti-SREBP2 Sc-5603 (Santa-Cruz Biotechnology, Heideberg) Verdünnung 1:40.000 1:500 68 kDa 125 kDa	Rabbit polyclonal Verdünnung 1:10.000
Histon H1	Rabbit polyclonal Anti Histon H1 Sc-1806 (Santa-Cruz Biotechnology, Heideberg) Verdünnung 1:1.000 32-33 kDa	Rabbit polyclonal Verdünnung 1:10.000

Abk.: sc = Santa Cruz Biotechnology, SREBP1 = *sterol regulatory element binding protein 1*, SREBP2 = *sterol regulatory element binding protein 2*

Vor der Entwicklung mit dem ECL Advance Western Blotting Detecton Kit wurde die Membran erneut dreimal für zehn Minuten mit TBST gewaschen. Nach fünf minütiger Inkubation mit dem ECL-Kit (Reagenzien A und B im Verhältnis 1:1) konnten die Banden mit dem Lumineszenzimager „G:Box“ (SYNGENE) und der Software „Gene Snap“ (SYNGENE)

visualisiert werden. Die Quantifizierung der Banden erfolgte mit der Software „Gene Tool“ (SYNGENE).

4.18 Elektrophoretischer Mobilitäts Shift Assay (EMSA)

Das Elektrophoretischer Mobilitäts Shift Assay (EMSA) dient dem Nachweis DNA- oder RNA-bindender Proteine, wie beispielsweise Transkriptionsfaktoren. Hierfür werden DNA- oder RNA-Fragmente mit bekannter Sequenz eingesetzt. Die Auftrennung erfolgt im Polyacrylamidgel durch Elektrophorese aufgrund des unterschiedlichen Molekulargewichtes. DNA mit gebundenen Transkriptionsfaktoren hat ein höheres Molekulargewicht und bewegt sich langsamer, als freie DNA-Fragmente. Mit Hilfe von Chemilumineszenz können die Banden der Auftrennung sichtbar gemacht werden.

4.18.1 Gewinnung der Nuklearfraktion

Die Herstellung der Nuklearfraktion erfolgt mit Hilfe des Nuclear extract-Kits von Active Motif. Hierfür wurden etwa 200 mg Leber eingewogen. Im ersten Schritt wurde das Gewebe homogenisiert, hierfür wurden zunächst 1,5 mL PBS und eine Metallkugel der Probe zugefügt und im TissueLyser für fünf Minuten bei 15 Hz homogenisiert. Anschließend wurden die Proben bei 5000 rpm und 4°C für fünf Minuten zentrifugiert. Das entstandene Pellet und der Überstand wurden in weitere 2 mL Reaktionsgefäß überführt, die Metallkugel verblieb im Reaktionsgefäß. Das Pellet und der Überstand wurden ein weiteres Mal bei 10.000 rpm und 4°C für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen. Das entstandene Pellet wurde in 500 µL 1x „*Hypotonic Buffer*“ angereichert mit 3 µL · g⁻¹ Dithiothreitol (DTT) und 3 µL · g⁻¹ Detergent gelöst und ein weiteres Mal wurde die Probe im TissueLyser für fünf Minuten bei 15 Hz homogenisiert. Die Proben wurden bei 10.000 rpm bei 4°C für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein gekühltes 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt. In einem zweiten Schritt wurde zunächst die cytoplasmatische Fraktion gewonnen. Es wurden 100 µL des 1x „*Hypotonic Buffer*“ zum verbliebenen Pellet aus dem vorherigen Schritt zugegeben und das Pellet resuspendiert. Die Probelösungen wurden in ein neues gekühltes 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt und für 15 Minuten auf Eis inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden 5 µL Detergent zugegeben und stark gevortext. Die Proben wurden für zwei Minuten bei 14.000 rpm und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues gekühltes 1,5 mL-Reaktionsgefäß pipettiert und das entstandene Pellet für die Gewinnung der

Nuklearfraktion verwendet. Im dritten Schritt wurde dann die Nuklearfraktion gewonnen, hierfür wurde das Pellet in 25 μL „*Complete Lysis Buffer*“ (bestehend aus 2,5 μL 10 mM DTT, 22,25 μL Lysis Buffer und 0,25 μL Protease Inhibitor) resuspendiert und stark gevortext. Anschließend inkubierten die Proben auf Eis für 30 Minuten auf dem Schüttler bei 150 rpm. Nach der Inkubation wurden die Proben ein weiteres Mal für 30 Sekunden gevortext und für zehn Minuten bei 4°C und 14.000 g zentrifugiert. Der Überstand entspricht der Nuklearfraktion und wurde in ein weiteres gekühltes 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt. Die Lagerung erfolgte bei -80°C. Das Nuklearextrakt wurde für die Durchführung des EMSA verwendet.

4.18.2 Hybridisierung und Markierung

Die für die Hybridisierung verwendete Sequenzen der Oligonukleotide sind in Tabelle 19 dargestellt. Jeweils 20 μL der Oligonukleotide (100 ng je μL in TEN-Puffer) wurden bei RT für eine Stunde inkubiert.

Tabelle 19: Eigenschaften der verwendeten Oligonukleotide des EMSA

Gen	Sequenz
ratACO-PPRE- F 5'	GATCAAAGGGACC <u>AGGACAAAGGTCACGTT</u> CGGGAA
ratACO-PPRE- R 5'	GATCTTCCCAACGT <u>GACCTTTGTCCTGGTCC</u> CTTT

Abk.: PPRE = *peroxisom-proliferator response element* ACO = Acyl-CoA Oxidase

Die Markierung von 100 ng doppelsträngiger DNA erfolgte mit 0,05 mM DIG-ddUTP in 1x Markierungspuffer, 5 mM CoCl_2 und terminaler Transferase (20 Units je μL) für 15 Minuten bei 37°C.

4.18.3 Gelelektrophorese und Blotting

Für die Auftrennung mittels Elektrophorese wurde ein 6%iges Gel erzeugt, bestehend aus 4,5 mL Polyacrylamid, 24 mL sterilem Wasser, 1,5 mL 10x TBE, 300 μL 10%iges APS und 30 μL TEMED. Es wurden 80 μg des nukleären Extrakts für die Analyse eingesetzt. Jede Probe wurde mit 4 μL Bindungspuffer, 1 μL Poly d(I-C), 1 μL Poly L-Lysin versetzt. Das Gesamtvolumen wurde mit Wasser auf 17 μL eingestellt. Die Proben inkubierten für 15

Minuten auf Eis. Nach der Zugabe von 2,4 ng (3 μ L) DIG_DNA inkubierten die Proben für 30 Minuten bei RT. Es wurden 4 μ L Ladepuffer ohne Bromphenolblau und 1 μ L Ladepuffer mit Bromphenolblau zugegeben und die Proben wurden in die Taschen des Gels aufgetragen.

Für den Nachweis einer spezifischen Bindung von PPRE und PPAR α wurde eine Kompetition durchgeführt. Hierfür wurden die Proben vor der Aufarbeitung mit 100-facher unmarkierter DNA für 30 Minuten auf Eis inkubiert. Desweiteren wurden Positiv- und Negativproben auf jeder Membran mitgeführt. Die positive Kontrolle stellte eine markierte, humane DNA dar. Die negative Kontrolle enthielt kein Nuklearextrakt. Die spezifische PPRE/PPAR-Bindung nachzuweisen wurde eine Kompetition durchgeführt. Hierfür wurden die Proben vor der eigentlichen Aufarbeitung mit unmarkierter, humaner DNA im 100-fachen Überschuss für 30 Minuten auf Eis inkubiert, anschließend erfolgte die oben genannte Aufbereitung der Proben.

Die Elektrophorese zur Auftrennung der Proben erfolgte mit 0,5 x TBE-Puffer bei 85 Volt für etwa zwei Stunden, anschließend erfolgte die Übertragung auf eine positiv geladene Nitrocellulose-Membran in 0,5 x TBE-Puffer bei 300 mA für 60 Minuten. Nach dreiminütigem cross-linking unter UV-Licht, erfolgte ein zweistündiger Backvorgang bei 80°C

4.18.4 Detektion mittels Chemilumineszenz

Um die Auftrennung der Banden sichtbar machen zu können, wurde die Membran für fünf Minuten in 7 mL 1x Detektionspuffer behandelt, gefolgt von einer fünfminütigen Inkubation mit 3 mL 1x Detektionspuffer mit 30 μ L Substrat Disodium 3-(4-methoxyspiro {1,2-dioxetane-3,2'-(5'-chloro)tricyclo [3.3.1.^{13,7}]decan}-4-yl)phenyl phosphat (CSPD). Die Detektion und Auswertung erfolgte mit dem Lumineszenzimager „G:Box“ (SYNGENE) und der Software „Gene Snap“ (SYNGENE).

4.19 Messung lipogener Enzym-Aktivitäten

4.19.1 Gewinnung der zytosolischen und mikrosomalen Fraktion aus der Leber

Die Lebercytosol-Gewinnung erfolgte angelehnt an die Methode von Garg et al (1988), hierbei wurden 1,25 g des Lebergewebes eingewogen und mit 2 mL Homogenisierungspuffer (0,1 M Phosphatpuffer, 0,25 M Sucrose, pH 7,4) in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator unter Eiskühlung, mit 500 U \cdot min⁻¹ und mit zehn Hüben homogenisiert. Das Homogenat wurde in ein Zentrifugenröhrchen überführt und für zehn Minuten bei 4°C und 4000 U \cdot min⁻¹ zentrifugiert. Die Fettschicht wurde entfernt und 1,5 mL des Überstandes wurden in ein

Ultrazentrifugen-Röhrchen pipettiert und für 60 Minuten bei 4°C und 105.000 g in einer Ultrazentrifuge zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein weiteres Ultrazentrifugen-Röhrchen dekantiert und für weiter 60 Minuten bei 4°C und 105000 g zentrifugiert. Der Überstand entspricht der zytosolischen Fraktion und wurde aliquotiert und bis zur Analyse bei -80°C gelagert. Das Pellet wurde ebenfalls bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Das Pellet entspricht der Mikrosomenfraktion und wurde in einem Phosphatpuffer (25 mM K₂HPO₄, 25 mM KH₂PO₄, 100 mM Sucrose, 2 mM DTT, 30 mM EDTA, 50 mM KCl) resuspendiert und für 60 Minuten bei 4°C und 105000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde zur Messung der HMGCoA-Reduktase-Aktivität verwendet.

4.19.2 Messung der Glucose-6-phosphat Dehydrogenase-Aktivität

Die Glucose-6-phosphat Dehydrogenase (G6PD, EC 1.1.1.49) katalysiert die Umwandlung von Glucose-6-phosphat zu 6-Phosphogluconolacton, wobei NADPH/H⁺ gebildet wird, welches fotometrisch gemessen werden kann und der proportional der G6PD-Aktivität ist.

Die Messung der Enzymaktivität der Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase erfolgte mit Hilfe des Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Assay Kits (MAK015).

Es wurde hierfür zuvor gewonnenes Lebercytosol verwendet. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben. Zunächst wurde eine NADPH/H⁺-Standardreihe hergestellt und anschließend wurden die Proben bei 450 nm und 37°C fotometrisch gemessen. Nach zwei Minuten erfolgte die Initialmessung. Anschließend wurde für 30 Minuten alle fünf Minuten die Extinktion gemessen. Die G6PD-Aktivität berechnet sich aus der folgenden Formel:

$$G6PD - Aktivität = \frac{NADPH \times Vf}{RZ \times V}$$

NADH = gebildete Menge NADPH zwischen Initial- und Endmessung

Vf = Verdünnungsfaktor

RZ = Reaktionszeit

V = Volumen der Probe

Unit (U) = nmol/(min · × mg protein)

Schließlich wurde die G6PD-Aktivität auf den Proteingehalt der Probe bezogen. Der Proteingehalt wurde, wie zuvor in Kapitel 4.17.2 beschrieben, bestimmt.

4.19.3 Messung der Fettsäuresynthase-Aktivität

Die Fettsäuresynthase (FAS, EC 2.3.1.85) katalysiert die Überführung von Malonyl-CoA und Acetyl-CoA, unter Oxidation von NADPH/H⁺ in n-Carbonsäuren. Die entstehende Menge NADP⁺ ist dabei der FAS-Aktivität proportional. Die Extinktionsabnahme durch den NADPH/H⁺-Verbrauch kann fotometrisch gemessen werden.

Die Messung der Fettsäuresynthase-Aktivität erfolgte in Anlehnung an die Methode von Nepokroeff et al (1975) ebenfalls im Zytosol der Leber. Das Pipettierschema ist in Tabelle 20 dargestellt.

Proben mit Präinkubationsmedium 1:5 verdünnen und bei 37°C für 30 Minuten inkubieren.

Tabelle 20: Pipettierschema FAS-Aktivität

	Probe in µL	Blindwert in µL
Testmedium1	350	350
Testmedium 2	50	50
Testmedium 3	50	--
Probe	50	50
Wasser bidest.	--	50

Testmedium 1: 700 mM K₂HPO₄/KH₂PO₄ (pH 7,0), 0,14 mM NADPH/H⁺, 1,4 mM EDTA, 1,4 mM DTT; Testmedium 2: 0,33 mM Acetyl-CoA; Testmedium: 1,0 mM Malonyl-CoA

Ansätze vorsichtig mischen und Extinktionsabnahme bei 450 nm und 25°C für eine Minute alle zehn Sekunden messen.

Zur Berechnung der FAS-Aktivität wurde zunächst der, für jede Probe individuelle, Blindwert subtrahiert. Der Blindwert erfolgte ohne die Zugabe von Malonyl-CoA, stattdessen wurde bidestilliertes Wasser eingesetzt und dient der Korrektur des Wertes der Probe, um die unspezifische Oxidation von NADPH/H⁺. Die Berechnung der Aktivität der FAS erfolgte, bezogen auf den Proteingehalt der Probe (BCA, Kapitel 4.17.2), nach der folgenden Gleichung:

$$FAS - \text{Aktivität} = \frac{V}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta E \times p^{-1}$$

V = Testvolumen in mL

ε = Extinktionskoeffizient für NADPH/H⁺ 6,22 x 10⁻³ mL x mol⁻¹ x cm⁻¹

d = Schichtdicke in cm

v = Probenvolumen in mL

ΔE = Extinktionsänderung pro Minute

p = Proteinkonzentration der Probe in mg/mL

Unit (U) = nmol/(min · × mg protein)

4.19.4 Messung der 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase-Aktivität

Die 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMGCR, EC 1.1.1.34) gilt als Schlüsselenzym der Cholesterinsynthese und wurde in der Mikrosomenfraktion der Leber mit Hilfe des HMG-CoA-Reductase Assay Kit gemessen. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben. Die Messung erfolgte alle 20 Sekunden in 96-well-plates bei 340 nm und 37°C für zehn Minuten. Die Berechnung der HMGCR-Aktivität erfolgte nach der folgenden Gleichung:

$$HMGCR - \text{Aktivität} = \frac{V}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta E \times p^{-1}$$

V = Testvolumen in mL

ε = Extinktionskoeffizient für zwei NADPH/H⁺-Moleküle 12,44 x 10⁻³ mL x mol⁻¹ x cm⁻¹

d = Schichtdicke in cm

v = Probenvolumen in mL

ΔE = Extinktionsänderung pro Minute

p = Proteinkonzentration der Probe in mg/mL

Unit (U) = pmol/(min · × mg protein)

4.20 Statistische Auswertung

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten wurden mit dem Programm „MiniTab Statistical Software“ (Version 13) ausgewertet. Die Daten wurden zunächst mit Hilfe des Anderson-

Darling Tests auf Normalverteilung überprüft. Anschließend wurden die Daten mittels einfaktorieller ANOVA analysiert. Wenn sich die Mittelwerte signifikant voneinander unterschieden, wurde ein multipler Mittelwertvergleich mit dem Fisher Test durchgeführt. Als Signifikanzgrenze galt eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($P < 0,05$). Lag keine Normalverteilung vor, wurde der Kruskal-Wallis Test angewendet. Auch hier galt als Signifikanzgrenze eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($P < 0,05$). Alle Daten sind in der vorliegenden Arbeit als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Ausreißer wurden über die Cooks Distanzen ermittelt. Die Cooks-Distanzen sind ein Maß für den Einfluss, den ein einzelner Fall auf das gesamte Modell nimmt. Sie messen, wie stark sich die Regressionsgerade verändern würde, wenn der Fall ausgeschlossen würde. Generell gelten Werte größer 1 als Ausreißer und sollten genauer untersucht werden.

5 Ergebnisse

5.1 Leistungsdaten

In Tabelle 21 sind die Wachstumsparameter der Zuckerratten des Versuches dargestellt. Zu Beginn des Versuchs waren die Tiere acht Wochen alt und es konnte ein signifikanter Unterschied der Gewichte der schlanken Kontrollgruppe (LC) gegenüber der fettleibigen Casein-Gruppe (OC) und der beiden Untersuchungsgruppen (OI50 und OI100) festgestellt werden. Innerhalb der fettleibigen Gruppen (OC, OI50 und OI100) war kein signifikanter Unterschied der Anfangsgewichte zu beobachten. Die Endgewichte und die daraus resultierenden täglichen Gewichtszunahmen wiesen signifikante Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen auf. Die Endgewichte der LC-Gruppe unterschied sich signifikant von den Endgewichten und den täglichen Gewichtszunahmen der fettleibigen Versuchsgruppen, welche eine stärkere Gewichtszunahme und eine höhere Futteraufnahme zeigten. Innerhalb der fettleibigen Versuchsgruppen konnten Unterschiede in der Gewichtsentwicklung und der Futteraufnahme festgestellt werden. Die OI50-Gruppe zeigte eine stärkere Gewichtszunahme als die OC-Gruppe und die OI100-Gruppe. Bei der Futteraufnahme zeigte sich ein signifikanter Unterschied. Die OI50- und OI100-Gruppe nahmen täglich mehr Futter auf als die OC-Gruppe. Die LC-Gruppe unterschied sich von den drei fettleibigen Gruppen durch eine reduzierte Futteraufnahme. Die Futteraufnahme kann, aufgrund der paarweisen, tierschutzkonformen Haltung, nur je Käfig angegeben werden. Die Futtermittelverwertung ergibt sich aus dem Quotienten von Gewichtszunahme und Futteraufnahme. Die OI50-Gruppe wies eine signifikant reduzierte Futtermittelverwertung im Vergleich mit den Gruppen LC, OC und OI100 auf. Die OI100-Gruppe zeigte eine signifikant höhere Futtermittelverwertung als die OC-Gruppe und unterschied sich im Vergleich mit der LC-Gruppe nicht signifikant. Die Futtermittelverwertungen der Gruppen OC und LC zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 21: Wachstumsparameter von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
Anfangsgewicht, g	246 ± 15 ^a	281 ± 31 ^b	280 ± 28 ^b	280 ± 25 ^b	< 0,05
Endgewicht, g	359 ± 25 ^a	424 ± 46 ^b	462 ± 39 ^c	435 ± 33 ^b	< 0,001
Gewichtszunahme, g/d	4,04 ± 0,49 ^a	5,14 ± 0,93 ^b	6,50 ± 0,85 ^c	5,55 ± 0,75 ^b	< 0,001
Futteraufnahme, g/Käfig	39,9 ± 2,4 ^a	49,6 ± 2,6 ^b	55,7 ± 3,4 ^c	58,1 ± 4,8 ^c	< 0,001
Futterverwertung, g/g	4,94 ± 0,26 ^{bc}	4,85 ± 0,37 ^b	4,37 ± 0,30 ^a	5,37 ± 0,48 ^c	0,001

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n= 12 (Anfangsgewicht, Endgewicht und Gewichtszunahme) n = 6 (Futteraufnahme und Futterverwertung). Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenprotein 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenprotein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

5.2 Triglycerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber

Tabelle 22 zeigt die Triglycerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber der Zuckerratten des Versuches. Die Triglycerid-Konzentration der LC-Gruppe unterschied sich signifikant von denen der fettleibigen Versuchsgruppen (OC, OI50, OI100). Durch die Substitution der Proteinquelle Casein mit Insektenmehl konnte eine deutliche Reduzierung des Triglycerid-Gehaltes im Plasma gegenüber der fettleibigen Caseingruppe gezeigt werden. Sowohl die OI50-Gruppe, als auch die OI100-Gruppe zeigten eine signifikante Verringerung des Triglycerid-Gehaltes im Plasma gegenüber der OC-Gruppe. Beim Cholesterin-Gehalt im Plasma konnte eine signifikante, dosisabhängige Reduzierung durch das Insektenmehl gegenüber der OC-Gruppe gezeigt werden. Die LC-Gruppe zeigte einen deutlich geringeren Cholesterin-Gehalt gegenüber allen fettleibigen Gruppen (OC, OI50, OI100). In der Leber zeigte sich sowohl für den Triglycerid-, als auch den Cholesterin-Gehalt eine dosisabhängige Reduzierung durch den Ersatz von Insektenmehl (OI50, OI100) im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die schlanke Kontrollgruppe wies deutlich geringere Triglycerid- und Cholesterin-Konzentrationen in der Leber gegenüber der fettleibigen Versuchsgruppen auf.

Ergebnisse

Tabelle 22: Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
Plasma					
Triglyzerid, mmol/L	2,70 ± 0,71 ^a	11,12 ± 1,83 ^c	4,15 ± 0,97 ^b	4,68 ± 1,78 ^b	< 0,001
Cholesterol, mmol/L	3,36 ± 0,67 ^a	8,87 ± 1,02 ^b	7,49 ± 0,86 ^c	5,85 ± 1,18 ^d	< 0,001
Leber					
Triglycerid, µmol/g	8,73 ± 5,03 ^a	145,97 ± 47,80 ^c	83,96 ± 27,02 ^b	73,44 ± 22,70 ^b	< 0,001
Cholesterol, µmol/g	7,86 ± 2,18 ^a	31,40 ± 9,78 ^c	16,67 ± 5,46 ^b	15,55 ± 5,52 ^b	< 0,001

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n= 12. Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenprotein 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenprotein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant

5.3 Histologische Schnitten der Leber (Oil Red O Färbung)

Für eine visuelle Untersuchung der Triglyzerid-Gehalte in der Leber der Versuchstiere wurden histologische Schnitte angefertigt. Die Ergebnisse der Oil Red O Färbung sowie die dazugehörige Fotografie der Leber, sind in Abbildung 6 dargestellt. Das parenchymatische Gewebe war in der LC-Gruppe deutlich zu erkennen. Die OC-Gruppe zeigte eine vermehrte Anfärbung von Triglyzeriden gegenüber der LC-Gruppe. Durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle (OI50, OI100) konnte eine dosisabhängige Reduzierung der angefärbten Triglyzeride in der Leber der fettleibigen Zuckerkratten beobachtet werden.

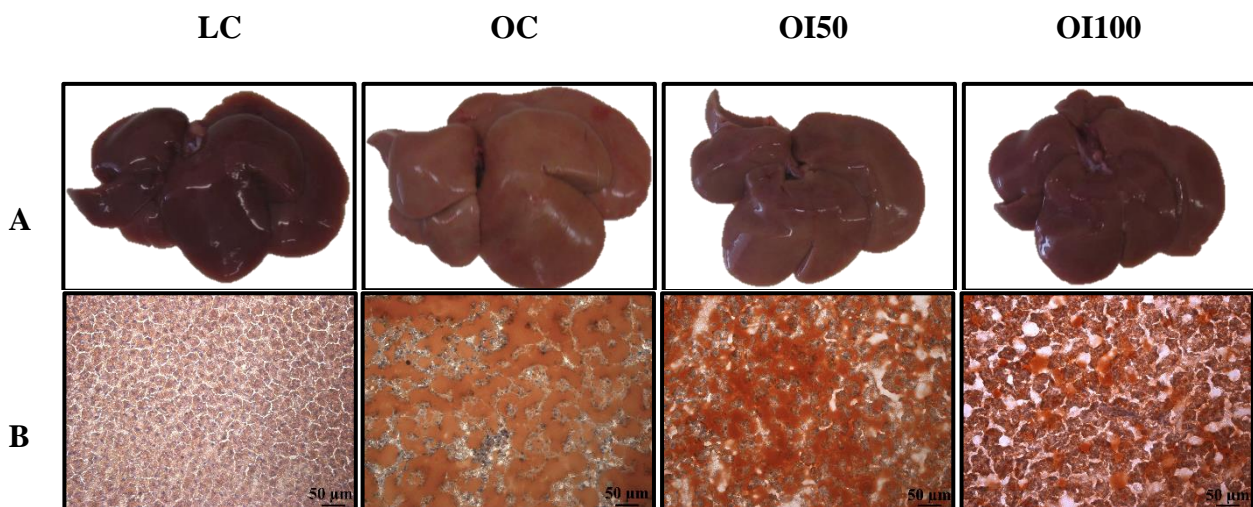


Abbildung 6: Oil-Red O Färbung der Leber (B) und Fotografien der zugehörigen Leber (A)
Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenmehl 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenmehl 100% (fa/fa)

5.4 Einfluss von Insektenmehl auf das Genexpressionsprofil in der Leber

Bei Betrachtung des Effektes durch den Einsatz von 100% Insektenmehl als Proteinquelle, im Vergleich zum Referenzprotein Casein bei fettliebigen Zuckerratten in einer Genexpressionsanalyse, unter den Parametern Fold Change (FC) > 1,3 bzw. <-1,3 und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%, konnten 216 hochregulierte und 426 herunterregulierte Gene festgestellt werden. Die Ergebnisse der Genexpressionsanalyse sind in Anhang 1 dargestellt. Das am stärksten hochregulierte Gen war *Urinary Protein 1-like (LOC100360095)* mit einem Fold Change von +13,37. Das am stärksten herunterregulierte Gen war Stearoyl-Coenzym A Desaturase 2 (*SCD2*), mit einem Fold Change von -9,59. Im Vergleich OI100 gegen OC waren insgesamt 642 Gene hoch- bzw. herunterreguliert, davon waren 631 Proteinkodierend und 11 Mikro-RNA-kodierend. Bei Betrachtung dieser 642 Gene, im Vergleich OI50 gegen OC, kann eine dosisabhängige Wirkung des Insektenmehls festgestellt werden (siehe Anhang 1). Zur Identifizierung der beeinflussten Stoffwechselwege, wurde eine Analyse (*genes et enrichment analysis, GSEA*), mit DAVID Bioinformatics durchgeführt. Hierfür wurden die hoch- bzw. herunterregulierten Genlisten, mit dem Genom von *Rattus norvegicus* als Referenzgenom, getrennt voneinander betrachtet. Im Folgenden sind die Ergebnisse der DAVID-Bioinformatics-Analyse mit Fold Enrichment und p-Werten dargestellt. Die am stärksten hochregulierten biologischen Prozesse waren Histidin katabolische Prozesse und Aflatoxin katabolische Prozesse (Tabelle 23). Die Beeinflussung der *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoms (KEGG)* Stoffwechselwege der hochregulierten Gene, im Vergleich OI100 gegen OC, sind in Tabelle 24 aufgeführt. Die Stoffwechselwege mit der stärksten Hochregulierung waren der Vitamin B6-Stoffwechsel, die Gallensäurenbiosynthese und der Tryptophan-Stoffwechsel. Biologische Prozesse, welche sich im Vergleich OI100 gegen OC herunterreguliert darstellten, sind in Tabelle 25 gezeigt. Hier konnte eine Beeinflussung des Lipidstoffwechsels festgestellt werden. Stark beeinflusste biologische Prozesse waren biosynthetische Prozesse von Sterolen, Cholesterin und ungesättigten Fettsäuren sowie metabolische Prozesse langkettiger Fettsäuren. Die entsprechend der *KEGG*-Analyse herunterregulierten Stoffwechselwege sind in Tabelle 26 dargestellt. Hier stellten sich unter anderem Stoffwechselwege wie die Steroidbiosynthese, die Biosynthese ungesättigter Fettsäuren und die Fettsäuren-Elongation dar.

Tabelle 23: Beeinflusste biologische Prozesse in der Leber aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der hochregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Term	Fold Enrichment	p-Wert
<i>histidine catabolic process to glutamate and formamide</i>	105,0	< 0,001
<i>histidine catabolic process to glutamate and formate</i>	105,0	0,019
<i>aflatoxin catabolic process</i>	105,0	0,019
<i>monocarboxylic acid metabolic process</i>	70,0	0,028
<i>porphyrin-containing compound metabolic process</i>	52,5	0,037
<i>L-serine biosynthetic process</i>	52,5	0,037
<i>heterocycle metabolic process</i>	42,0	0,046
<i>xanthine catabolic process</i>	42,0	0,046
<i>toxin metabolic process</i>	35,0	0,003
<i>selenium compound metabolic process</i>	24,2	0,007
<i>drug metabolic process</i>	21,0	< 0,001
<i>cellular response to cadmium ion</i>	16,6	0,014
<i>glycogen metabolic process</i>	12,4	0,004
<i>one-carbon metabolic process</i>	11,2	0,029
<i>steroid biosynthetic process</i>	9,8	0,037
<i>retinol metabolic process</i>	9,5	0,039
<i>response to light stimulus</i>	9,0	0,043
<i>fatty acid metabolic process</i>	7,0	0,019
<i>oxidation-reduction process</i>	4,8	< 0,001
<i>female pregnancy</i>	4,7	0,021
<i>response to nutrient</i>	3,8	0,041
<i>regulation of gene expression</i>	3,1	0,024

Tabelle 24: Beeinflusste KEGG-Stoffwechselwege in der Leber aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der hochregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Term	Fold Enrichment	p-Wert
<i>Vitamin B6 metabolism</i>	24,0	0,006
<i>primary bile acid biosynthesis</i>	20,0	< 0,001
<i>tryptophan metabolism</i>	10,4	< 0,001
<i>Histidine metabolism</i>	10,4	0,032
<i>drug metabolism - cytochrom P450</i>	9,0	< 0,001
<i>steroid hormone biosynthesis</i>	8,9	< 0,001
<i>retinol metabolism</i>	8,7	< 0,001
<i>metabolism of xenobiotics by cytochrom P450</i>	8,0	< 0,001
<i>chemical carcinogenesis</i>	7,0	< 0,001
<i>PPAR signaling pathway</i>	5,2	0,015
<i>metabolic pathways</i>	2,4	< 0,001

Tabelle 25: Beeinflusste biologische Prozesse in der Leber aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der herunterregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Term	Fold Enrichment	p-Wert
<i>sterol biosynthetic process</i>	26,6	< 0,001
<i>Cholesterol biosynthetic process</i>	19,0	< 0,001
<i>unsaturated fatty acid biosynthetic process</i>	17,6	< 0,001
<i>long-chain fatty acid metabolic process</i>	14,8	< 0,001
<i>smooth muscle tissue development</i>	14,5	< 0,001
<i>Isoprenoid biosynthetic process</i>	14,1	< 0,001
<i>Collagen fibril organization</i>	12,3	< 0,001
<i>Acyl-CoA metabolic process</i>	12,3	< 0,001
<i>fatty acid biosynthetic process</i>	9,0	< 0,001
<i>fatty acid metabolic process</i>	6,6	0,002
<i>blood vessel development</i>	6,4	< 0,001
<i>actin cytoskeleton reorganization</i>	6,4	< 0,001
<i>extracellular matrix organization</i>	6,1	< 0,001
<i>wound healing</i>	5,9	< 0,001
<i>response to mechanical stimulus</i>	5,2	< 0,001
<i>response to hormone</i>	5,0	< 0,001
<i>response to cytokine</i>	4,5	< 0,001
<i>positive regulation of cell migration</i>	4,1	< 0,001
<i>cell adhesion</i>	4,0	< 0,001
<i>response to organic cyclic compound</i>	3,8	< 0,001
<i>response to lipopolyosaccharide</i>	3,4	< 0,001
<i>aging</i>	3,1	< 0,001
<i>response to drug</i>	3,0	< 0,001
<i>oxidation-reduction process</i>	2,5	< 0,001

Tabelle 26: Beeinflusste KEGG-Stoffwechselwege in der Leber aus der DAVID-Bioinformatics-Analyse der herunterregulierten Gene aus dem Vergleich der OI100 gegen OC

Term	Fold Enrichment	p-Wert
<i>Steroid boisyntesis</i>	19,7	< 0,001
<i>Biosynthesis of unsaturated fatty acids</i>	13,6	< 0,001
<i>Terpenoid backbone biosynthesis</i>	11,4	< 0,001
<i>Fatty acid elongation</i>	10,6	< 0,001
<i>ECM-receptor interaction</i>	6,4	< 0,001
<i>Pyruvate metabolism</i>	5,5	0,012
<i>Fatty acid metabolism</i>	4,1	0,034
<i>PPAR signaling pathway</i>	4,0	< 0,001
<i>Protein digestion and absorption</i>	3,9	0,004
<i>Biosynthesis of antibiotics</i>	3,6	< 0,001
<i>Complement and coagulation cascades</i>	3,6	0,023
<i>Focal adhesion</i>	3,5	< 0,001
<i>Amoebiasis</i>	3,5	0,004
<i>Viral myocarditis</i>	3,4	0,016
<i>Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)</i>	3,3	0,035
<i>Dilated cardiomyopathy</i>	3,1	0,042
<i>TGF-beta signaling pathway</i>	3,1	0,046
<i>Axon quidance</i>	2,7	0,026
<i>PI3K-Akt signaling pathway</i>	2,3	0,002
<i>Metabolic pathways</i>	1,4	0,02

Zur Validierung der Ergebnisse des Microarrays wurden 18 Gene ausgewählt und mittels qPCR gemessen, die Ergebnisse sind in Tabelle 27 dargestellt. Es konnten die Ergebnisse des Microarrays mit Hilfe der qPCR reproduziert werden. Es konnten sowohl aus den Ergebnissen des Microarrays, als auch aus denen der qPCR vergleichende Signifikanzen ermittelt werden.

Tabelle 27: Validierung der Genexpressionsanalyse mittels qPCR

Gene Symbol ¹	Fold Change LC vs. OC		Fold Change OI50 vs. OC		Fold Change OI100 vs. OC		p-Wert	
	Microarray	qPCR	Microarray	qPCR	Microarray	qPCR	Microarray	qPCR
<i>UrPrIL</i>	59,8 ^c	8,64 ^c	8,11 ^b	1,76 ^b	13,4 ^{bc}	2,26 ^{ab}	<0,001	<0,001
<i>CAR3</i>	9,37 ^d	31,0 ^b	2,24 ^b	5,07 ^a	5,55 ^c	8,09 ^a	<0,001	<0,001
<i>MUP5</i>	14,3 ^c	166,3 ^b	4,40 ^b	13,9 ^a	5,02 ^b	2,56 ^a	< 0,001	< 0,001
<i>MT2A</i>	1,83	2,05 ^b	1,42	1,56 ^{ab}	4,07	2,56 ^c	0,152	< 0,001
<i>UST5R</i>	6,79 ^c	8,55 ^c	2,24 ^b	2,79 ^b	3,38 ^b	2,67 ^b	<0,001	<0,001
<i>CYP7A1</i>	-2,72 ^a	-1,89 ^a	1,84 ^{bc}	1,59 ^b	3,37 ^c	3,85 ^c	<0,001	<0,001
<i>MT1A</i>	3,21 ^b	4,02 ^b	1,49 ^{ab}	1,41 ^a	3,12 ^b	3,92 ^b	0,020	< 0,001
<i>HSD17B2</i>	1,46 ^{ab}	4,19 ^c	1,42 ^{ab}	1,47 ^b	2,58 ^b	1,82 ^b	0,079	<0,001
<i>HAL</i>	3,38 ^d	5,52 ^c	1,66 ^b	1,75 ^b	2,52 ^c	2,25 ^b	<0,001	<0,001
<i>PSAT1</i>	-2,59 ^a	-1,12 ^a	1,64 ^c	1,39 ^b	2,46 ^d	2,64 ^c	<0,001	<0,001
<i>SCD2</i>	-14,1 ^a	-6,32 ^a	-6,21 ^b	-3,72 ^a	-9,59 ^{ab}	-11,6 ^a	<0,001	<0,001
<i>ACOT1</i>	-6,76 ^a	-7,29 ^a	-4,68 ^a	-6,17 ^a	-5,51 ^a	-15,0 ^a	<0,001	<0,001
<i>ASPN</i>	-3,80 ^a	-5,88 ^a	-4,39 ^a	-3,85 ^a	-3,29 ^a	-3,23 ^a	<0,001	<0,001
<i>INSIG1</i>	-1,73 ^b	-3,03 ^a	-1,66 ^{bc}	-1,54 ^b	-3,20 ^a	-3,03 ^a	0,002	<0,001
<i>GSTM3</i>	-6,11 ^a	-8,32 ^a	-2,51 ^b	-3,01 ^b	-3,15 ^b	-3,33 ^b	<0,001	<0,001
<i>PDK4</i>	-1,11 ^b	-1,23 ^b	-2,21 ^a	-2,20 ^a	-3,00 ^a	-3,58 ^a	<0,001	<0,001
<i>S100A11</i>	-2,66 ^a	-1,57 ^{ab}	-2,43 ^a	-1,25 ^b	-2,83 ^a	-1,72 ^a	0,004	<0,001
<i>FATBP2</i>	-3,01 ^a	-3,65 ^a	-1,58 ^b	-1,82 ^b	-2,73 ^a	-3,01 ^a	<0,001	<0,001

Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n= 12. Abk.: LC = lean casein (fa/+); OC = obese casein (fa/fa); OI50 = obese insect protein 50% (fa/fa), OI100 = obese insect protein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

¹ *ACOT1* = acyl-CoA thioesterase 1. *ASPN* = asporin. *CAR3* = carbonic anhydrase 3. *CYP7A1* = cytochrome P450 7A1. *FATBP2* = fatty acid transport binding protein 2. *GSTM3* = glutathione S-transferase mu 3. *HAL* = histidine ammonia-lyase. *HSD17B2* = hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 2. *INSIG1* = insulin-induced gene 1 protein. *MT1A* = metallthionin 1A. *MT2A* = metallthionin 2A. *MUP5* = major urinary protein 5. *PDK4* = pyruvate dehydrogenase kinase 4. *PSAT1* = phosphoserine aminotransferase 1. *SCD2* = stearoyl-Coenzyme A desaturase 2. *S100A11* = S100 calcium binding protein A11. *UrPrIL* = urinary protein 1-like. *UST5R* = integral membrane transport protein.

5.5 Genexpressionen ausgewählter SREBP-1 und SREBP-2 Zielgene in der Leber

Um die reduzierten Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen in Plasma und Leber durch das Insektenmehl als Proteinquelle erklären zu können wurden Genexpressionen der Cholesterin- und Fettsäuren-Synthese gemessen. Die Ergebnisse der qPCR-Messungen der SREBP-1 und SREBP-2 Zielgene sind, als relative mRNA-Konzentrationen, in Tabelle 28 dargestellt. Die mRNA-Konzentrationen der LC-Gruppe sowie die OI50- und die OI100-Gruppe sind in Relation zur OC-Gruppe dargestellt. Als SREBP1-regulierte Gene wurden die mRNA-Konzentrationen der Gene Acetyl-CoA Carboxylase- α (*ACACA*), ATP Citrate Lyase (*ACLY*), Fettsäuresynthase (*FAS*), Fatty acid transport binding protein 2 (*FATBP2*), Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (*G6PD*) und Glycerol-3-phosphate Acyltransferase (*GPAT*) bestimmt. Als Vertreter der SREBP2-regulierten Gene wurden qPCR-Analysen der Gene 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-Coenzyme A Reductase (*HMGCR*), Insulin-induced gene 1 Protein (*INSIG1*), Low density lipoprotein Receptor (*LDLR*), Lanosterol Synthase (*LSS*), Nuclear receptor subfamily 1, group H, member 3 (*NR1H3*) und Squalene Epoxidase (*SQLE*) durchgeführt. Cytochrome P450 7A1 (*CYP7A1*) wurde als Hauptvertreter der Gallensäurensynthese gemessen. Alle mRNA-Konzentrationen der Fettsäurensynthese, der Cholesterinsynthese und der Gallensäurensynthese waren, im Vergleich mit der LC-Gruppe, in der OC-Gruppe signifikant erhöht. Die Gruppen OI50 und OI100 zeigten eine signifikant verringerte Expressierung der Gene der Fettsäuren- und Cholesterin-Synthese. Für nahezu alle untersuchten Genexpressionen ließ sich eine dosisabhängige Beeinflussung durch das Insektenmehl feststellen. Alle SREBP-1- und SPREBP-2-regulierten Gene waren durch den Einsatz des Insektenmehls dosisabhängig geringer exprimiert als in der OC-Gruppe. Lediglich *NR1H3* zeigte nur in der OI50-Gruppe eine reduzierte Expression im Vergleich zur OC-Gruppe. Die OI100-Gruppe zeigte keinen signifikanten Unterschied im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die LC-Gruppe zeigte für alle gemessenen Gene eine reduzierte Expression gegenüber der OC-Gruppe. Die Gallensäurensynthese, mit *CYP7A1* als Vertreter, stellte sich dosisabhängig erhöht exprimiert in den Insektenmehlgruppen (OI50, OI100) im Vergleich mit der OC-Gruppe dar. Die LC-Gruppe wies eine geringere Expression im Vergleich zur OC-Gruppe auf.

Tabelle 28: Relative mRNA-Konzentrationen der SREBP1- und SREBP2-regulierten Gene und eines Gens der Gallensäurensynthese in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Gene ¹	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
SREBP1-regulierte Gene					
<i>ACACA</i>	0,62 ± 0,20 ^a	1,00 ± 0,26 ^b	0,88 ± 0,24 ^b	0,64 ± 0,15 ^a	< 0,001
<i>ACLY</i>	0,47 ± 0,08 ^a	1,00 ± 0,21 ^d	0,81 ± 0,14 ^c	0,61 ± 0,18 ^b	< 0,001
<i>FAS</i>	0,61 ± 0,19 ^a	1,00 ± 0,27 ^b	0,86 ± 0,36 ^b	0,56 ± 0,14 ^a	< 0,001
<i>FATBP2</i>	0,27 ± 0,06 ^a	1,00 ± 0,13 ^c	0,55 ± 0,09 ^b	0,33 ± 0,03 ^a	< 0,001
<i>G6PD</i>	0,71 ± 0,27 ^b	1,00 ± 0,42 ^c	0,66 ± 0,20 ^{ab}	0,43 ± 0,24 ^a	< 0,001
<i>GPAT</i>	0,25 ± 0,06 ^a	1,00 ± 0,28 ^c	0,83 ± 0,24 ^c	0,58 ± 0,17 ^b	< 0,001
SREBP2-regulierte Gene					
<i>HMGCR</i>	0,24 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,33 ^b	0,99 ± 0,42 ^b	0,79 ± 0,30 ^b	< 0,001
<i>INSIG1</i>	0,34 ± 0,18 ^a	1,00 ± 0,32 ^c	0,65 ± 0,25 ^b	0,31 ± 0,12 ^a	< 0,001
<i>LDLR</i>	0,64 ± 0,12 ^a	1,00 ± 0,32 ^c	0,87 ± 0,20 ^{bc}	0,70 ± 0,18 ^{ab}	0,001
<i>LSS</i>	0,51 ± 0,14 ^a	1,00 ± 0,27 ^c	0,82 ± 0,19 ^b	0,61 ± 0,20 ^a	< 0,001
<i>NR1H3</i>	0,69 ± 0,09 ^a	1,00 ± 0,17 ^c	0,83 ± 0,14 ^b	1,02 ± 0,14 ^c	< 0,001
<i>SQLE</i>	0,20 ± 0,06 ^a	1,00 ± 0,31 ^c	0,63 ± 0,21 ^b	0,49 ± 0,12 ^b	< 0,001
Gallensäurensynthese					
<i>CYP7A1</i>	0,55 ± 0,41 ^a	1,00 ± 0,68 ^{ab}	1,56 ± 0,68 ^b	3,62 ± 1,79 ^c	< 0,001

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n= 12. Abk.: LC = lean casein (fa/+); OC = obese casein (fa/fa); OI50 = obese insect protein 50% (fa/fa), OI100 = obese insect protein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

OC als Referenzgruppe.

¹*ACACA* = acetyl-CoA carboxylase- α . *ACLY* = ATP-citrate lyase. *FAS* = fatty acid synthetase. *FATBP2* = fatty acid transport binding protein 2. *G6PD* = glucose-6-phosphate dehydrogenase. *GPAT* = glycerol-3-phosphate acyltransferase. *HMGCR* = 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase. *INSIG1* = insulin-induced gene 1 protein. *LDLR* = low density lipoprotein receptor. *LSS* = lanosterol synthase. *NR1H3* = nuclear receptor subfamily 1, group H, member 3. *SQLE* = squalene epoxidase. *CYP7A1* = cytochrome P450 7A1.

5.6 Expressionen ausgewählter Gene der β -Oxidation und des Carnitin-Stoffwechsels in der Leber

In Tabelle 29 sind die Ergebnisse der qPCR-Messung von Genen des Carnitin-Stoffwechsels und der β -Oxidation dargestellt. Zur Untersuchung des Carnitin-Stoffwechsels wurden die relativen mRNA-Konzentrationen von Aldehyd Dehydrogenase 9 family, member A1 (*ALDH9A1*), Gamma-butyrobetaine Hydroxylase 1 (*BBOX1*), Carnitin-acylcarnitine Translocase (*CACT*) und Organic cation transporter number 2 (*OCTN2*) bestimmt. Die relativen mRNA-Konzentrationen von Acyl-CoA Dehydrogenase long chain, (*ACADL*), Acyl-CoA Dehydrogenase (C-4 to C-12 straight chain, *ACADM*), Acyl-CoA Dehydrogenase short chain (*ACADS*) Acyl-CoA-Oxidase 1 (*ACOX1*), Acyl-CoA-oxidase 2 (*ACOX2*), Carnitine palmitoyltransferase 1a (*CPT1A*) und Cytochrome P450 4A1 (*CYP4A1*) wurden zur Untersuchung der β -Oxidation gemessen und ausgewertet. Für die *ALDH9A1* und *CACT* zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Genexpression innerhalb der Versuchsgruppen. Bei der Messung der relativen mRNA-Konzentration der *BBOX1* wies die OI50-Gruppe eine signifikant erhöhte Expression gegenüber der LC-Gruppe auf. Alle weiteren Vergleiche zeigten keinen signifikanten Unterschied. *OCTN2* zeigte im Genotypvergleich keine signifikanten Unterschiede. Der Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle hatte eine signifikant reduzierte mRNA-Konzentration von *OCTN2* im Vergleich zur fettleibigen Caseingruppe zur Folge.

Die Auswertung der relativen mRNA-Konzentrationen ausgewählter Gene der β -Oxidation zeigten kein eindeutiges Bild. *ACADL*, *ACADS* und *ACOX1* zeigten im Genotyp-Vergleich eine signifikant geringere Expressierung in der LC-Gruppe, gegenüber der OC -Gruppe. *ACOX2* und *CPT1A* wiesen eine signifikant erhöhte Expressierung in der LC-Gruppe im Vergleich zu OC-Gruppe auf. *ACADM* zeigte im Vergleich LC gegen OC keinen signifikanten Unterschied. Der Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle (OI50, OI100) reduzierte die relativen mRNA-Konzentrationen in der Leber von *ACADL* und *ACOX1* gegenüber der OC-Gruppe signifikant. Relative mRNA-Konzentrationen der *CPT1A* waren in der OI100-Gruppe signifikant erniedrigt gegenüber der OC-Gruppe. *CPT1A* zeigte im Vergleich der Gruppen OI50 und OC keinen signifikanten Unterschied. Die relativen mRNA-Konzentrationen der *ACADM* und *ACADS* waren in der OI50-Gruppe signifikant erniedrigt im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die OI100-Gruppe zeigte bei der relativen mRNA-Konzentration der *ACADM* und *ACADS* keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der OC-Gruppe. *ACOX2* stellte sich in der OI100-Gruppe im Vergleich mit der OC-Gruppe signifikant erhöht exprimiert dar. Der Vergleich OI50 und OC der relativen mRNA-Konzentrationen der *ACOX2* waren nicht signifikant.

Tabelle 29: Relative mRNA-Konzentrationen der Carnitin-Biosynthese- und β -Oxidation regulierenden Gene in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Gene ¹	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
Carnitin Biosynthese					
<i>ALDH9A1</i>	0,92 ± 0,17	1,00 ± 0,17	0,95 ± 0,20	0,94 ± 0,20	0,768
<i>BBOX1</i>	0,93 ± 0,07 ^a	1,00 ± 0,10 ^{ab}	1,06 ± 0,15 ^b	1,02 ± 0,08 ^{ab}	0,037
<i>CACT</i>	0,95 ± 0,17	1,00 ± 0,12	1,04 ± 0,15	0,91 ± 0,11	0,144
<i>OCTN2</i>	1,03 ± 0,67 ^b	1,00 ± 0,73 ^b	0,37 ± 0,17 ^a	0,50 ± 0,32 ^a	0,003
β -Oxidation					
<i>ACADL</i>	0,59 ± 0,12 ^a	1,00 ± 0,20 ^c	0,68 ± 0,09 ^{ab}	0,81 ± 0,13 ^b	< 0,001
<i>ACADM</i>	1,05 ± 0,08 ^c	1,00 ± 0,11 ^{bc}	0,89 ± 0,09 ^a	0,92 ± 0,12 ^{ab}	0,002
<i>ACADS</i>	0,71 ± 0,15 ^a	1,00 ± 0,15 ^b	0,70 ± 0,10 ^a	0,94 ± 0,11 ^b	< 0,001
<i>ACOX1</i>	0,63 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,14 ^c	0,76 ± 0,18 ^b	0,64 ± 0,07 ^b	< 0,001
<i>ACOX2</i>	2,57 ± 0,74 ^c	1,00 ± 0,18 ^a	1,34 ± 0,18 ^a	1,67 ± 0,42 ^b	< 0,001
<i>CPT1A</i>	1,49 ± 0,38 ^c	1,00 ± 0,47 ^b	0,83 ± 0,34 ^{ab}	0,65 ± 0,20 ^a	< 0,001

Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n= 12 Tiere je Gruppe. Abk.: LC = lean casein (fa/+); OC = obese casein (fa/fa); OI50 = obese insect protein 50% (fa/fa), OI100 = obese insect protein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

OC als Referenzgruppe

¹ *ACADL* = acyl-CoA dehydrogenase, long chain. *ACADM* = acyl-CoA dehydrogenase (C-4 to C-12 straight chain). *ACADS* = acyl-CoA dehydrogenase short chain. *ACOX1* = acyl-CoA-oxidase 1. *ACOX2* = acyl-CoA-oxidase 2. *ALDH9A1* = aldehyde dehydrogenase 9 family, member A1. *BBOX1* = gamma-butyrobetaine hydroxylase 1. *CACT* = carnitine-acylcarnitine translocase. *CPT1A* = carnitine palmitoyltransferase 1a. *OCTN2* = organic cation transporter number 2.

5.7 Expressionen ausgewählter Gene des Homocystein-Stoffwechsels in der Leber

Die Untersuchung des Methionin-Homocystein-Glutathion-Systems erfolgte mittels der relativen mRNA-Konzentrationen der Adenosylhomocysteinase (*AHCY*), der Betain-Homocystein S-Methyltransferase (*BHMT*), der Cystathion-beta-Synthase (*CBS*), der Cholin Dehydrogenase (*CHDH*), der Cystathion gamma-Lyase (*CTH*), der Dimethylglycin Dehydrogease (*DMGDH*), der Glycin N-Methyltransferase (*GNMT*), der Methionin Adenosyltransferase 1A (*MAT1A*), der 5-Methyltetrahydrofolat-Homocystein Methyltransferase (*MTR*), der 5-Methyltetrahydrofolat-Homocystein Methyltransferase Reduktase (*MTRR*), der Phosphatidylethanolamin N-Methyltransferase (*PEMT*), der Protein Arginin Methyltransferase 1 (*PRMT1*), der Sarcosin Dehydrogenase (*SARDH*) und den Serin Hydroxymethyltransferasen 1 und 2 (*SHMT1* und *SHMT2*). Die zugehörigen Ergebnisse sind in Tabelle 30 dargestellt. Bei Betrachtung des gesamten Methionin-Homocystein-Glutathion-Systems konnte keine eindeutige Beeinflussung durch das Insektenprotein oder den Genotyp festgestellt werden. *AHCY*, *CHDH*, *GNMT*, *MAT1A* und *MTR* waren in der LC-Gruppe signifikant höher, als in der OC-Gruppe exprimiert, während *BHMT*, *CTH*, *DMGDH* und *PRMT1* im Vergleich der Gruppen LC und OC signifikant niedriger exprimiert waren. Auf *CBS*, *SARDH*, *SHMT1*, *SHMT2*, *MTRR* und *PEMT* hatte der Genotyp keinen signifikanten Einfluss. Der Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle hatte auf die Expressionen der meisten gemessenen Gene des Methionin-Homocystein-Glutathion-Systems keinen Einfluss. Die relativen mRNA-Konzentrationen von *GNMT* und *MAT1A* waren in der OI100-Gruppe signifikant erhöht im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die OI50-Gruppe hingegen zeigte keine signifikanten Unterschiede der relativen mRNA-Konzentrationen von *GNMT* und *MAT1A* im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die relative mRNA-Konzentration von *SHMT1* zeigten eine signifikant erhöhte Expressierung bei den Gruppen OI50 und OI100 im Vergleich zur OC-Gruppe.

Tabelle 30: Relative mRNA-Konzentrationen des Methionin-Homocystein-Glutathion-Systems regulierenden Gene in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Gene ¹	LC	OC	OI50	OC100	p-Wert
<i>AHCY</i>	1,40 ± 0,18 ^c	1,00 ± 0,13 ^a	0,98 ± 0,13 ^a	1,18 ± 0,24 ^b	< 0,001
<i>BHMT</i>	0,57 ± 0,16 ^a	1,00 ± 0,24 ^b	0,64 ± 0,11 ^a	0,88 ± 0,16 ^b	< 0,001
<i>CBS</i>	1,21 ± 0,27	1,00 ± 0,35	1,06 ± 0,30	1,21 ± 0,36	0,287
<i>CHDH</i>	1,35 ± 0,33 ^b	1,00 ± 0,18 ^a	1,25 ± 0,39 ^b	0,85 ± 0,15 ^a	< 0,001
<i>CTH</i>	0,86 ± 0,15 ^a	1,00 ± 0,18 ^b	0,92 ± 0,14 ^{ab}	1,07 ± 0,16 ^b	0,015
<i>DMGDH</i>	0,80 ± 0,14 ^a	1,00 ± 0,21 ^b	0,70 ± 0,06 ^a	0,93 ± 0,12 ^b	< 0,001
<i>GNMT</i>	1,59 ± 0,31 ^c	1,00 ± 0,11 ^a	1,12 ± 0,16 ^a	1,38 ± 0,23 ^b	< 0,001
<i>MAT1A</i>	1,23 ± 0,15 ^b	1,00 ± 0,19 ^a	1,07 ± 0,20 ^a	1,27 ± 0,23 ^b	0,006
<i>PRMT1</i>	0,76 ± 0,12 ^a	1,00 ± 0,12 ^c	0,87 ± 0,13 ^b	0,93 ± 0,15 ^{bc}	< 0,001
<i>SARDH</i>	1,30 ± 0,47	1,00 ± 0,24	1,34 ± 0,31	1,13 ± 0,22	0,061
<i>SHMT1</i>	0,99 ± 0,17 ^a	1,00 ± 0,13 ^a	1,20 ± 0,20 ^b	1,19 ± 0,19 ^b	0,004
<i>SHMT2</i>	0,96 ± 0,13 ^a	1,00 ± 0,16 ^a	0,93 ± 0,16 ^a	1,18 ± 0,22 ^b	0,003
<i>MTR</i>	1,54 ± 0,50 ^b	1,00 ± 0,34 ^a	1,39 ± 0,48 ^b	0,93 ± 0,21 ^a	0,002
<i>MTRR</i>	1,02 ± 0,16 ^a	1,00 ± 0,16 ^a	1,26 ± 0,16 ^b	1,14 ± 0,18 ^{ab}	0,002
<i>PEMT</i>	0,90 ± 0,11 ^{ab}	1,00 ± 0,14 ^b	0,82 ± 0,12 ^a	0,94 ± 0,12 ^b	0,012

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n= 12 Tiere je Gruppe. Abk: LC = lean casein (fa/+); OC = obese casein (fa/fa); OI50 = obese insect protein 50% (fa/fa), OI100 = obese insect protein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

OC als Referenzgruppe

¹ *AHCY* = adenosylhomocysteinase. *BHMT* = betaine-homocysteine S-methyltransferase. *CBS* = cystathionine-beta-synthase. *CHDH* = choline dehydrogenase. *CTH* = cystathionine gamma-lyase. *DMGDH* = dimethylglycine dehydrogenase. *GNMT* = glycine N-methyltransferase. *MAT1A* = methionine adenosyltransferase 1A. *MTR* = 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase. *MTRR* = 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase. *PEMT* = phosphatidylethanolamine N-methyltransferase. *PRMT1* = protein arginine methyltransferase 1. *SARDH* = sarcosine dehydrogenase. *SHMT1* = serine hydroxymethyltransferase 1. *SHMT2* = serine hydroxymethyltransferase 2.

5.8 Expressionen ausgewählter Gene der Elongation und Desaturierung von Fettsäuren in der Leber

Zur Untersuchung der Elongation und der Desaturierung langkettiger Fettsäuren wurden die Genexpressionen der Fatty Acid Elongasen 5 und 6 (*ELOVL 5* und *6*) sowie die Fatty acid Desaturasen 1 und 2 (*FADS1* und *2*) gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 31 dargestellt. Bei der *ELOVL5* konnte eine signifikant erhöhte Expression der LC-Gruppe gegenüber der OC-Gruppe festgestellt werden. Die OI50-Gruppe zeigte eine signifikant erhöhte Expression der *ELOVL5* im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die OI100-Gruppe zeigte eine signifikant verringerte Expression im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die *ELOVL6* wies eine reduzierte Expression in der LC-Gruppe gegenüber der OC-Gruppe auf. Die *ELOVL6* zeigte in der OI50-Gruppe keinen signifikanten Unterschied zur OC-Gruppe. In der OI100 stellte sich die relative mRNA-Konzentration der *ELOVL6* signifikant reduziert im Vergleich zur OC-Gruppe dar. Die untersuchten Desaturasen zeigten in der LC-Gruppe eine signifikant reduzierte Expression gegenüber der OC-Gruppe. Sowohl für *FADS1*, als auch für *FADS2* konnte eine dosisabhängige Reduzierung der Untersuchungsgruppen OI50 und OI100 im Vergleich mit der OC-Gruppe gezeigt werden.

Tabelle 31: Relative mRNA-Konzentrationen der Elongasen und Desaturasen in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Gene ¹	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
<i>ELOVL5</i>	1,48 ± 0,30 ^d	1,00 ± 0,20 ^b	1,21 ± 0,22 ^c	0,76 ± 0,15 ^a	< 0,001
<i>ELOVL6</i>	0,29 ± 0,13 ^a	1,00 ± 0,27 ^c	0,82 ± 0,33 ^{bc}	0,57 ± 0,20 ^b	< 0,001
<i>FADS1</i>	0,83 ± 0,21 ^b	1,00 ± 0,22 ^c	0,69 ± 0,14 ^b	0,34 ± 0,07 ^a	< 0,001
<i>FADS2</i>	0,58 ± 0,12 ^b	1,00 ± 0,28 ^c	0,59 ± 0,10 ^{ab}	0,38 ± 0,12 ^a	< 0,001

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n= 12 Tiere je Gruppe. Abk.: LC = lean casein (fa/+); OC = obese casein (fa/fa); OI50 = obese insect protein 50% (fa/fa), OI100 = obese insect protein 100% (fa/fa). ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

OC als Referenzgruppe

ELOVL 6 = ELOVL fatty acid elongase 6. *ELOVL5* = ELOVL fatty acid elongase 5. *FADS1* = fatty acid desaturase 1. *FADS2* = fatty acid desaturase 2

5.9 Relativen Proteinkonzentrationen von SREBP-1 und SREBP-2 in der Leber

Die relative Proteinkonzentrationen der nukleären Transkriptionsfaktoren der Fettsäuresynthese (n-SREBP-1) und der Cholesterinhomöostase (n-SREBP-2) wurden in der Leber der Versuchstiere gemessen. Die Ergebnisse der Proteinmessung von n-SREBP-1 und n-SREBP-2 sind in Tabelle 32 dargestellt. In Abbildung 7 sind repräsentative Banden von n-SREBP-1 und n-SREBP-2 sowie des Referenzproteins Histon dargestellt. Hierbei zeigte n-SREBP-1 in der OC-Gruppe die höchste Proteinkonzentration. In der LC-Gruppe konnte die geringste Proteinkonzentration gemessen werden. Die Untersuchungsgruppen OI50 und OI100 zeigten eine dosisabhängige Verringerung der Proteinkonzentration des Transkriptionsfaktors n-SREBP-1 im Vergleich mit der OC-Gruppe. Allerdings zeigten diese Unterschiede keine statistische Signifikanz.

Der Transkriptionsfaktor n-SREBP-2 zeigte ebenfalls die höchste Proteinkonzentration für die OC-Gruppe. Die LC-Gruppe und die Gruppen OI50 und OI100 zeigten deutlich geringere Proteinkonzentrationen als die OC-Gruppe. Diese Unterschiede zeigten eine statistische Signifikanz.

Tabelle 32: Relative Proteinkonzentrationen der Transkriptionsfaktoren n-SREBP-1 und n-SREBP-2 in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
n-SREBP-1	0,78 ± 0,18	1,00 ± 0,20	0,93 ± 0,22	0,86 ± 0,24	0,113
n-SREBP-2	0,63 ± 0,31 ^a	1,00 ± 0,25 ^b	0,69 ± 0,27 ^a	0,63 ± 0,29 ^a	0,01

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n= 12 Tiere je Gruppe

Abk.: n-SREBP-1 = nukleäres sterol regulatory element binding protein 1, n-SREBP-2= nukleäres sterol regulatory element binding protein 2, LC = lean Casein; OC = obese Casein; OI50 = obese 50% Insektenmehl; OI100 = obese 100% Insektenmehl; ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant. OC als Referenzgruppe

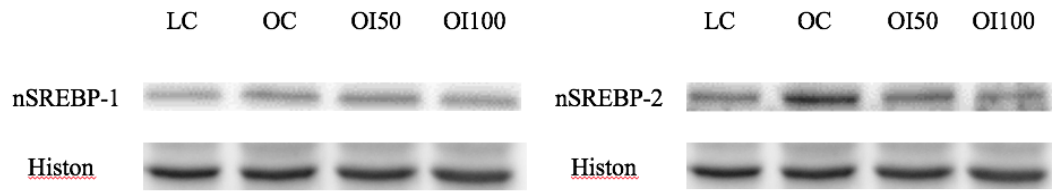


Abbildung 7: Repräsentative Bilder der Immunoblots für n-SREBP-1 (links) und nSREBP-2 (rechts)

Abk.: nSREBP-1 = nukleäres sterol regulatory element binding protein 1, nSREBP-2= nukleäres sterol regulatory element-binding protein 2, LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenmehl 50% (fa/fa); OI100 = obese Insektenmehl 100% (fa/fa)

5.10 PPAR α -Bindungsaktivität im nuklearen Leberextrakt

Im Folgenden sind die Ergebnisse der EMSA-Analyse dargestellt. Hierfür wurden Nuklearextrakte der Leber der Versuchstiere (n = 6) verwendet. In Abbildung 8 ist ein repräsentatives Bild der Analyse dargestellt. Es konnten keine unterschiedlichen PPAR α -Bindungsaktivitäten zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen festgestellt werden.

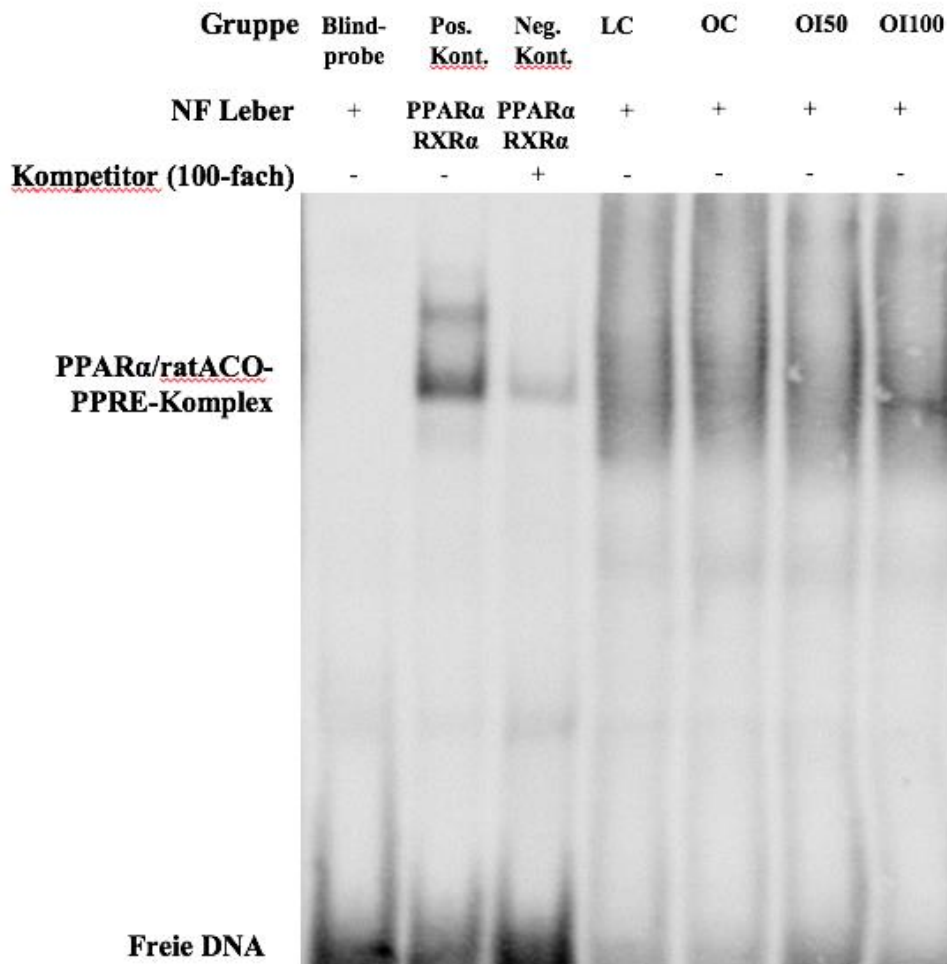


Abbildung 8: Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) des PPAR α /ACO-Komplexes
 Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese 50% Insektenmehl (fa/fa); OI100 = obese 100% Insektenmehl (fa/fa); NF = Nuklearfraktion; PPAR = Peroxisom Proliferator aktivierter Rezeptor; RXR = Retinsäure-X-Rezeptor; ACO = Acyl-CoenzymA Oxidase

5.11 Aktivitäten lipogener Enzyme

Um zu überprüfen, ob sich erhöhte mRNA-Konzentrationen lipogener Enzyme auch in erhöhten Enzymaktivitäten widerspiegeln wurden die Aktivitäten der Enzyme Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (*G6PD*) und Fatty Acid Synthase (*FAS*), als Vertreter lipogener Enzyme gemessen. Die Aktivitätsmessung der 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (*HMGCR*) steht als Schlüsselenzym für die SREBP-2-regulierten Gene und damit für die Cholesterin-Synthese.

In Tabelle 33 sind die Aktivitäten der gemessenen Enzyme in der Leber der Versuchstiere dargestellt.

Die OC-Gruppe zeigte eine signifikant höhere Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase als die LC-Gruppe. Die Gruppen OI50 und OI100 zeigten eine dosisabhängige Reduzierung der Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase. Die Aktivität der *G6PD* war in der OI100 signifikant reduziert als in der OC. Der Vergleich OI50 und OC zeigte keine Signifikanz.

Die *FAS*-Aktivität der OC-Gruppe zeigte eine signifikant höhere Aktivität des Enzyms als die LC-Gruppe. Die Reduktion der Aktivität der *FAS* durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle konnte auch hier dosisabhängig dargestellt werden. Die Aktivitäten der *FAS* waren in der OI50 und in der OI100 signifikant geringer als in der OC.

Die OC-Gruppe zeigte eine signifikant erhöhte *HMGCR*-Aktivität gegenüber der LC-Gruppe. Die Versuchsgruppen OI50 und OI100 hatte eine dosisabhängige Reduzierung der Aktivität der *HMGCR* im Vergleich zur OC-Gruppe zur Folge. Die Reduktion der Aktivität der *HMGCR* durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle konnte auch hier dosisabhängig dargestellt werden. Die Aktivitäten der *HMGCR* waren in der OI50 und in der OI100 signifikant geringer als in der OC.

Ergebnisse

Tabelle 33: Aktivitäten von *G6PD*-, *FAS*- und *HMGCR* in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Enzym	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
<i>G6PD</i> , U	23,8 ± 10,2 ^a	51,5 ± 33,4 ^b	42,2 ± 15,0 ^{ab}	29,2 ± 11,7 ^a	0,006
<i>FAS</i> , U	2,88 ± 1,67 ^a	9,28 ± 2,56 ^b	4,61 ± 1,32 ^a	3,63 ± 2,24 ^a	< 0,001
<i>HMGCR</i> , U	82 ± 52 ^a	183 ± 130 ^b	146 ± 72 ^a	77 ± 60 ^a	0,008

Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenprotein 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenprotein 100% (fa/fa); *G6PD* = Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase; dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung, ^{a, b} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

5.12 Konzentrationen von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin in Plasma, Leber und *M. rectus femoris*

In Tabelle 34 sind die Konzentrationen von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin sowie der Vorstufen γ -Butyrobetain und Trimethyllysin im Plasma, in der Leber und im *M. rectus femoris* der schlanken und fettleibigen Zuckerratten dargestellt. Die LC-Gruppe zeigte für L-Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin eine signifikant höhere Konzentration als die OC-Gruppe. Für Acetyl-Carnitin konnten zwischen den Gruppen LC und OC kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle (OI50, OI100) konnte für die Konzentrationen von L-Carnitin, γ -Butyrobetain und Trimethyllysin eine signifikante, dosisabhängige Steigerung gegenüber der OC-Gruppe festgestellt werden. Für die Konzentrationen von Acetyl-Carnitin ließ sich ein signifikanter Anstieg der Gruppen OI50 und OI100 gegenüber der OC-Gruppe feststellen.

In der Leber waren die L-Carnitin-Konzentrationen innerhalb der fettleibigen Gruppen OC, OI50 und OI100 nicht signifikant unterschiedlich. Die L-Carnitin-Konzentrationen in der Leber der LC-Gruppe waren signifikant niedriger als aller fettleibigen Gruppen. Die Acetyl-Carnitin-Konzentrationen der LC- und der OC-Gruppe unterschieden sich nicht signifikant voneinander, während man eine dosisabhängige signifikante Erhöhung des Acetyl-Carnitin-Konzentrationen der Versuchsgruppen OI50 und OI100 im Vergleich mit der OC-Gruppe beobachten konnte. Die Konzentrationen von γ -Butyrobetain und Trimethyllysin waren in der Leber der LC-Gruppe signifikant höher als in der OC-Gruppe. Der Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle (OI50, OI100) hatte auf die Gehalte von γ -Butyrobetain eine signifikante, dosisabhängige erhöhte Konzentration im Vergleich mit der OC-Gruppe zur Folge. Die Konzentration von Trimethyllysin zeigte sich in der Leber der LC-Gruppe signifikant erhöht gegenüber der OC-Gruppe. Die OI50-Gruppe stellte sich gegenüber der OI100-Gruppe signifikant erhöht dar. Die OC-Gruppe zeigte keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur OI50 und OI100.

Im *M. rectus femoris* wurde ein signifikant erhöhte L-Carnitin- und Acetyl-Carnitin-Konzentration in der LC-Gruppe im Vergleich mit der OC-Gruppe beobachtet. Durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle (OI50, OI100) waren die L-Carnitin- und die Acetyl-Carnitin-Konzentrationen signifikant, dosisabhängig erhöht im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die Konzentrationen von γ -Butyrobetain waren in der LC-Gruppe signifikant erhöht gegenüber der OC-Gruppe. Bei Betrachtung der fettleibigen Gruppen wies die Gruppe OI100 eine signifikant höhere γ -Butyrobetain-Konzentration auf als die OC-Gruppe. Die OI50-Gruppe zeigte keine signifikanten Unterschiede zur OC-Gruppe. Bei der Konzentration von

Ergebnisse

Trimethyllysin konnten über alle Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede im *M. rectus femoris* festgestellt werden.

Tabelle 34: Konzentrationen von L-Carnitin, Acetyl-Carnitin, γ -Butyrobetaine und Trimethyllysin in Plasma, Leber und *M. rectus femoris* von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
<i>Plasma</i>					
L-Carnitin, $\mu\text{mol/L}$	55,8 \pm 6,2 ^b	49,4 \pm 5,4 ^a	75,4 \pm 8,4 ^c	84,7 \pm 9,5 ^d	< 0,001
Acetyl-Carnitin, $\mu\text{mol/L}$	17,4 \pm 2,3 ^a	19,1 \pm 4,4 ^a	27,3 \pm 4,6 ^b	25,2 \pm 7,0 ^b	< 0,001
γ -Butyrobetain, $\mu\text{mol/L}$	0,81 \pm 0,10 ^b	0,52 \pm 0,11 ^a	0,72 \pm 0,15 ^b	1,01 \pm 0,16 ^c	< 0,001
Trimethyllysin, $\mu\text{mol/L}$	3,57 \pm 0,81 ^b	2,63 \pm 0,72 ^a	3,91 \pm 0,69 ^b	4,66 \pm 1,03 ^c	< 0,001
<i>Leber</i>					
L-Carnitin, nmol/g	197 \pm 40 ^a	299 \pm 43 ^b	272 \pm 37 ^b	299 \pm 86 ^b	< 0,001
Acetyl-Carnitin, nmol/g	5,93 \pm 1,05 ^a	6,80 \pm 1,72 ^a	11,7 \pm 5,7 ^b	18,7 \pm 6,4 ^c	< 0,001
γ -Butyrobetain, nmol/g	1,63 \pm 0,30 ^b	1,15 \pm 0,24 ^a	1,82 \pm 0,36 ^b	2,52 \pm 0,27 ^c	< 0,001
Trimethyllysin, nmol/g	23,4 \pm 3,4 ^c	15,6 \pm 1,76 ^{ab}	16,5 \pm 2,9 ^b	13,9 \pm 2,4 ^a	< 0,001
<i>Muskel: M. rectus femoris</i>					
L-Carnitin, nmol/g	771 \pm 116 ^b	628 \pm 132 ^a	801 \pm 127 ^{bc}	924 \pm 230 ^c	0,001
Acetyl-Carnitin, nmol/g	218 \pm 33 ^{bc}	157 \pm 29,4 ^a	211 \pm 38 ^b	248 \pm 48 ^c	< 0,001
γ -Butyrobetain, nmol/g	10,3 \pm 2,0 ^c	5,95 \pm 0,75 ^a	6,05 \pm 0,73 ^a	8,06 \pm 2,52 ^b	< 0,001
Trimethyllysin, nmol/g	15,5 \pm 2,1	15,2 \pm 2,1	15,2 \pm 2,5	14,5 \pm 1,9	0,702

Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenprotein 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenprotein 100% (fa/fa), GSH = Glutathion, dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe, ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

5.13 Konzentrationen von Homocystein, Cystein und Glutathion im Plasma

In Tabelle 35 sind die Ergebnisse der Cystein-, Homocystein- und GSH-Messungen im Plasma der Versuchstiere dargestellt. Die OC-Gruppe zeigte eine signifikant niedrigere Cystein-Konzentration als die LC-Gruppe. Die Konzentration von Cystein war in der OI50-Gruppe signifikant erhöht gegenüber der OC-Gruppe. In der OI100-Gruppe war die Cystein-Konzentration im Vergleich zur OC-Gruppe nicht signifikant verändert. Alle fettleibigen Versuchsgruppen (OC, OI50, OI100) wiesen signifikant reduzierte Homocystein-Konzentrationen im Plasma im Vergleich zur LC-Gruppe auf. Die Glutathion-Konzentrationen zeigten über alle Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 35: Konzentrationen von Cystein, Homocystein und GSH im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Metabolit, μM	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
Cystein	274 ± 28^c	219 ± 32^a	251 ± 27^{bc}	240 ± 30^{ab}	< 0,001
Homocystein	$6,87 \pm 1,68^b$	$3,69 \pm 0,51^a$	$3,22 \pm 0,47^a$	$2,92 \pm 1,20^a$	< 0,001
GSH	146 ± 26	139 ± 22	142 ± 16	130 ± 16	0,274

Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenprotein 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenprotein 100% (fa/fa), GSH = Glutathion, dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

5.14 Konzentrationen von Homocystein, Cystein, Methionin, SAH und SAM in der Leber

Die Konzentrationen von Cystein, Homocystein, Glutathion, Methionin, S-Adenosyl-Homocystein und S-Adenosyl-Methionin in der Leber der Versuchstiere sind in Tabelle 36 dargestellt.

Die OC-Gruppe zeigte eine signifikant niedrigere Cystein-Konzentration als die LC-Gruppe. Die Cystein-Konzentrationen der fettleibigen Versuchsgruppen (OC, OI50, OI100) unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Die Versuchsgruppen LC, OC und OI50 zeigten keine signifikanten Unterschiede bei der Homocystein-Konzentration in der Leber. Die OI100-Gruppe zeigte eine signifikant reduzierte Homocystein-Konzentration im Vergleich zur OC-Gruppe sowie zu allen anderen Versuchsgruppen. Die Glutathion-Konzentration in der Leber der LC-Gruppe war signifikant höher als in der OC-Gruppe. Durch das Insektenmehl als Proteinquelle konnte eine Reduzierung der Glutathion-Konzentration in der Leber festgestellt werden. Dabei zeigte die OI100-Gruppe eine signifikant niedrigere Konzentration im Vergleich mit der OC-Gruppe. Für den Vergleich OI50 und OC konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Alle drei fettleibigen Gruppen unterschieden sich signifikant von der LC-Gruppe. In der Leber der LC-Gruppe wurde eine signifikant höhere Methionin-Konzentration als in der Leber der OC-Gruppe ermittelt. Bei Betrachtung der fettleibigen Versuchsgruppen konnte eine signifikant höhere Methionin-Konzentration in der Leber der OI50-Gruppe gegenüber der OC-Gruppe festgestellt werden, während die OI100-Gruppe eine signifikant niedrigere Methionin-Konzentration im Vergleich mit der OC-Gruppe zeigte. Die SAH-Konzentration in der Leber der LC-Gruppe erwies sich als signifikant erhöht gegenüber der OC-Gruppe. Die fettleibigen Insektenmehl-Gruppen (OI50, OI100) zeigten reduzierte SAH-Konzentrationen gegenüber der OC-Gruppe, wobei lediglich der Vergleich OI50 und OC einen signifikanten Unterschied ergab. Die SAM-Konzentration in der Leber der LC-Gruppe unterschied sich nicht signifikant von der SAM-Konzentration der OC-Gruppe. Die OI50-Gruppe zeigte eine signifikant erhöhte SAM-Konzentration im Vergleich mit der OC-Gruppe, während die OI100-Gruppe eine signifikant erniedrigte SAM-Konzentration gegenüber der OC-Gruppe aufwies. SAM-Konzentration der LC-Gruppe und der OI100-Gruppe waren im Vergleich mit der OC-Gruppe nicht signifikant verändert.

Tabelle 36: Konzentrationen von Cystein, Homocystein, Methionin, SAM, SAH und GSH in der Leber von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Metabolit, nmol/g	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
Cystein	292 ± 27 ^b	252 ± 42 ^a	247 ± 27 ^a	228 ± 29 ^a	< 0.001
Homocystein	12,0 ± 1,5 ^b	13,0 ± 1,6 ^b	12,5 ± 1,3 ^b	10,6 ± 1,8 ^a	0.004
GSH	6,35 ± 0,56 ^c	4,63 ± 0,57 ^b	4,51 ± 0,58 ^b	3,26 ± 0,55 ^a	< 0.001
Methionin	426 ± 41 ^c	347 ± 77 ^b	493 ± 80 ^d	261 ± 62 ^a	< 0.001
SAH	19,8 ± 2,0 ^c	15,7 ± 3,0 ^b	13,1 ± 1,4 ^a	14,5 ± 2,0 ^{ab}	< 0.001
SAM	28,4 ± 2,1 ^{ab}	30,1 ± 2,3 ^b	32,7 ± 2,8 ^c	27,4 ± 2,7 ^a	< 0.001

Abk.: LC = lean Casein (fa/+); OC = obese Casein (fa/fa); OI50 = obese Insektenprotein 50% (fa/fa), OI100 = obese Insektenprotein 100% (fa/fa), GSH= Glutathion, SAH = S-Adenosyl Homocystein, SAM = S-Adenosyl Methionin, dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant

5.15 Metabolit-Analyse im Plasma

5.15.1 Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma

Die Ergebnisse der Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma der Versuchstiere sind in Tabelle 37 dargestellt. Die Konzentrationen von Alanin, Arginin, Asparagin, Glycin, Lysin, Methionin, Serin und Theronin waren in der LC-Gruppe signifikant erhöht im Vergleich zur OC-Gruppe. Die Konzentrationen von Histidin, Ornithin, Tryptophan und Valin waren in der LC-Gruppe signifikant erniedrigt im Vergleich zur OC-Gruppe. Keine signifikanten Unterschiede zeigten die Konzentrationen von Asparaginsäure, Cistrullin, Glutamin, Glutaminsäure, Isoleucin, Leucin, Phenylalanin, Prolin und Tyrosin im Vergleich der LC-Gruppe mit der OC-Gruppe. Die Konzentrationen von Arginin, Phenylalanin, Tyrosin und Valin waren in der OI50-Gruppe signifikant erhöht gegenüber der OC-Gruppe. Die Konzentrationen von Asparagin, Glutamin und Histidin waren in der OI50-Gruppe signifikant erniedrigt im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die Konzentrationen von Alanin, Asparaginsäure, Cistrullin, Glutaminsäure, Glycin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Ornithin, Prolin, Serin, Threonin und Thryptophan zeigten im Vergleich der Gruppen OI50 und OC keine signifikanten Unterschiede. Die Konzentrationen von Glycin, Ornithin, Serin, Valin waren in der OI100-Gruppe signifikant höher als in der OC-Gruppe. Die Konzentrationen von Asparagin, Glutamin, Histidin, Methionin, Prolin und Tryptophan waren in der OI100-Gruppe signifikant niedriger als in der OC-Gruppe. Die Konzentrationen von Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Cistrullin, Gltaminsäure, Isoleucin, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Threonin und Tyrosin zeigten im Vergleich der OI100-Gruppe mit der OC-Gruppe keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 37: Aminosäuren-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Aminosäure, μM	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
Ala	772 \pm 125 ^b	637 \pm 55 ^a	701 \pm 62 ^{ab}	746 \pm 83 ^{ab}	0.002
Arg	185 \pm 24 ^c	129 \pm 23 ^a	161 \pm 27 ^b	126 \pm 30 ^{ab}	< 0.001
Asn	82 \pm 11 ^c	75 \pm 12 ^b	67 \pm 3 ^a	65 \pm 8 ^a	< 0.001
Asp	29 \pm 9 ^a	34 \pm 8 ^{ab}	32 \pm 5 ^{ab}	37 \pm 8 ^b	0.065
Cit	83 \pm 11	89 \pm 12	90 \pm 7	88 \pm 17	0.484
Gln	1106 \pm 115 ^b	1072 \pm 133 ^b	957 \pm 120 ^a	903 \pm 119 ^a	< 0.001
Glu	240 \pm 66	208 \pm 42	235 \pm 32	246 \pm 41	0.232
Gly	196 \pm 42 ^c	94 \pm 13 ^a	112 \pm 28 ^a	160 \pm 19 ^b	< 0.001
His	74 \pm 7 ^a	97 \pm 13 ^c	86 \pm 9 ^b	78 \pm 6 ^a	< 0.001
Ile	162 \pm 17 ^a	177 \pm 21 ^{ab}	190 \pm 19 ^b	181 \pm 20 ^b	0.007
Leu	265 \pm 27	269 \pm 33	284 \pm 28	265 \pm 27	0.327
Lys	463 \pm 70 ^b	378 \pm 36 ^a	386 \pm 38 ^a	362 \pm 36 ^a	< 0.001
Met	66 \pm 9 ^c	57 \pm 7 ^b	56 \pm 5 ^b	49 \pm 6 ^a	< 0.001
Orn	84 \pm 13 ^a	146 \pm 41 ^b	149 \pm 25 ^b	226 \pm 62 ^c	< 0.001
Phe	98 \pm 9 ^a	108 \pm 12 ^{ab}	122 \pm 13 ^c	109 \pm 11 ^b	< 0.001
Pro	325 \pm 68 ^b	302 \pm 55 ^b	300 \pm 31 ^b	245 \pm 28 ^a	0.002
Ser	245 \pm 30 ^b	203 \pm 29 ^a	216 \pm 40 ^a	262 \pm 28 ^b	< 0.001
Thr	325 \pm 45 ^b	258 \pm 20 ^a	277 \pm 23 ^a	267 \pm 35 ^a	< 0.001
Trp	117 \pm 19 ^a	139 \pm 22 ^b	144 \pm 21 ^b	125 \pm 20 ^a	0.008
Tyr	153 \pm 22 ^a	190 \pm 43 ^{ab}	237 \pm 63 ^c	222 \pm 44 ^{bc}	< 0.001
Val	306 \pm 35 ^a	357 \pm 50 ^b	399 \pm 43 ^c	396 \pm 53 ^c	< 0.001

Abk.: LC= lean Casein (fa/+), OC= obese Casein (fa/fa), OI50 = obese 50% Insektenprotein (fa/fa), OI100= obese 100% Insektenprotein (fa/fa), Ala= Alanin, Arg = Arginin, Asn = Asparagin, Asp = Asparginsäure, Cit = Cistrullin, Gln = Glutamin, Glu = Glutaminsäure, Gly = Glycin, His = Histidin, Ile = Isoleucin, Leu = Leucin, Lys = Lysin, Met = Methionin, Orn = Ornithin, Phe = Phenylalanin, Pro = Prolin, Ser= Serin, Thr = Threonin, Trp = Tryptophan, Tyr = Tyrosin, Val = Valin

Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

5.15.2 Acylcarnitin-Konzentrationen im Plasma

In Tabelle 38 sind die Ergebnisse der Acylcarnitin-Konzentrationen im Plasma der Versuchstiere dargestellt. Bei Betrachtung des Gesamt-Acylcarnitins im Plasma konnte eine erhöhte Konzentration der LC-Gruppe gegenüber der OC-Gruppe festgestellt werden. Die Gruppen OI50 und OI100 wiesen eine dosisabhängige erhöhte Konzentration gegenüber der OC-Gruppe auf. Die erhöhten Konzentrationen fanden sich insbesondere in den kurzkettigen Acylcarnitinen (C1-C5) wieder.

Tabelle 38: Acylcarnitin-Konzentrationen im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Acylcarnitin, µM	LC	OC	OI50	OI100	p- Wert
frei	36,7 ± 3,4 ^a	32,1 ± 3,4 ^a	50,2 ± 11,1 ^b	57,4 ± 10,0 ^c	<0,001
C2	15,2 ± 3,9 ^{ab}	12,5 ± 1,9 ^a	18,3 ± 5,7 ^b	20,3 ± 3,7 ^b	<0,001
C3	0,476 ± 0,089 ^a	0,387 ± 0,062 ^a	0,648 ± 0,226 ^b	0,772 ± 0,150 ^c	<0,001
C4	1,81 ± 0,87 ^a	2,49 ± 0,44 ^a	4,34 ± 0,91 ^b	4,33 ± 1,32 ^b	<0,001
C5	0,172 ± 0,027 ^a	0,158 ± 0,024 ^a	0,213 ± 0,048 ^b	0,213 ± 0,037 ^b	<0,001
C14	0,048 ± 0,011 ^a	0,067 ± 0,008 ^b	0,072 ± 0,017 ^b	0,071 ± 0,012 ^b	<0,001
C14:1	0,068 ± 0,020 ^a	0,141 ± 0,014 ^d	0,108 ± 0,027 ^c	0,091 ± 0,015 ^b	<0,001
C16	0,101 ± 0,027 ^a	0,186 ± 0,020 ^b	0,186 ± 0,040 ^b	0,163 ± 0,030 ^b	<0,001
C18	0,040 ± 0,011 ^a	0,077 ± 0,010 ^b	0,073 ± 0,018 ^b	0,064 ± 0,014 ^b	<0,001
C18:1	0,103 ± 0,031 ^a	0,176 ± 0,021 ^c	0,148 ± 0,034 ^b	0,137 ± 0,029 ^b	<0,001
C18:2	0,025 ± 0,009	0,026 ± 0,004	0,026 ± 0,007	0,023 ± 0,006	0,556
Gesamt- Acylcarnitn	19,1 ± 4,4 ^a	17,3 ± 2,34 ^a	25,2 ± 7,0 ^b	27,2 ± 4,6 ^b	<0,001

Abk.: LC= lean Casein (fa/+), OC= obese Casein (fa/fa), OI50 = obese 50% Insektenprotein (fa/fa), OI100= obese 100% Insektenprotein (fa/fa)

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d}
Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

5.15.4 Konzentrationen der individuellen Spezies von Phosphatidylcholin-, Lysophosphatidylcholin- und Sphingomyelin-Gehalt im Plasma

Die Ergebnisse der Konzentrationen der individuellen Phosphatidylcholin (PC)-Spezies im Plasma der Versuchstiere sind in Tabelle 39 dargestellt. Die Konzentrationen der PC-Spezies waren in der OC-Gruppe gegenüber der LC-Gruppe signifikant erhöht. Die mehrfach ungesättigten Vertreter C36:4; C38:4; C38:5 und C38:6 waren in den Gruppen OI50 und OI100 im Vergleich zur OC-Gruppe dosisabhängig reduziert. Vertreter mit zwei und drei Doppelbindungen (C34:2; C36:2; C36:3) zeigten hingegen erhöhte Konzentrationen im Plasma bei den Gruppen OI50 und OI100 im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die Vertreter C34:1 und C36:1 waren innerhalb der fettleibigen Gruppen (OC, OI50 und OI100) unverändert. Die Summe der Konzentrationen der LC-Spezies zeigte sich signifikant erniedrigt in der LC-Gruppe im Vergleich mit allen fettleibigen Versuchsgruppen. Innerhalb der Gruppen OC, OI50 und OI100 waren keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 39: Konzentrationen individueller Phosphatidylcholin-Spezies im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Phosphatidyl- cholin, μM	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
C34:1	83 \pm 41 ^a	238 \pm 44 ^b	216 \pm 55 ^b	250 \pm 95 ^b	<0.001
C34:2	134 \pm 30 ^a	211 \pm 39 ^b	254 \pm 53 ^{bc}	294 \pm 101 ^c	<0.001
C36:1	28 \pm 16 ^a	91 \pm 15 ^b	80 \pm 19 ^b	81 \pm 25 ^b	<0.001
C36:2	119 \pm 38 ^a	204 \pm 35 ^b	261 \pm 56 ^c	265 \pm 79 ^c	<0.001
C36:3	54 \pm 15 ^a	94 \pm 14 ^b	120 \pm 31 ^c	145 \pm 48 ^c	<0.001
C36:4	194 \pm 71 ^a	386 \pm 45 ^c	338 \pm 67 ^c	249 \pm 71 ^b	<0.001
C38:4	194 \pm 83 ^a	405 \pm 58 ^b	359 \pm 64 ^b	216 \pm 50 ^a	<0.001
C38:5	66 \pm 24 ^a	129 \pm 20 ^c	122 \pm 30 ^c	95 \pm 23 ^b	<0.001
C38:6	92 \pm 31 ^a	161 \pm 25 ^c	159 \pm 34 ^c	119 \pm 38 ^b	<0.001
Summe	963 \pm 339 ^a	1918 \pm 251 ^b	1908 \pm 349 ^b	1715 \pm 503 ^b	<0.001

Abk.: LC= lean Casein (fa/+), OC= obese Casein (fa/fa), OI50 = obese 50% Insektenprotein (fa/fa), OI100= obese 100% Insektenprotein (fa/fa)

Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d} Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

Als eine weitere Gruppe der Phospholipide (PL) wurden die Konzentrationen der Lysophosphatidylcholin (LPC)-Spezies im Plasma untersucht. Die zugehörigen Ergebnisse sind in Tabelle 40 dargestellt.

Für nahezu alle Vertreter der LPC-Spezies konnte eine erhöhte Konzentration im Plasma der OC-Gruppe gegenüber der LC-Gruppe festgestellt werden. Die Gruppen OI50 und OI100 zeigten eine dosisabhängige Erhöhung der Konzentrationen der Spezies mit C16:1, C17:0, C18:2 und C20:3 gegenüber der OC-Gruppe. Die Vertreter C14:0, C16:0, C18:1 blieben bei Betrachtung der fettleibigen Versuchsgruppen unverändert. Vertreter der C20:4-Spezies zeigten eine dosisabhängige Reduzierung der Gruppen OI50 und OI100 gegenüber der OC-Gruppe. Die Summe aller Konzentrationen der LPC-Spezies war in der LC-Gruppe signifikant niedriger als in der OC-Gruppe. Die Gruppen OC und OI50 unterschieden sich in der Summe aller LPC-Spezies-Konzentrationen nicht signifikant voneinander. Bei der OI100-Gruppe war die Summe der Konzentrationen aller LPC-Spezies signifikant niedriger als in der OC-Gruppe und signifikant niedriger in der LC-Gruppe.

Tabelle 40: Konzentrationen individueller Lysophosphatidylcholin-Spezies im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Lysophosphatidyl- cholin, μM	LC	OC	OI50	OI100	p-Wert
C14:0	7,57 \pm 0,49 ^a	8,25 \pm 0,78 ^{ab}	8,72 \pm 1,13 ^b	9,01 \pm 1,02 ^b	0,002
C16:0	171 \pm 19 ^a	242 \pm 28 ^b	238 \pm 47 ^b	219 \pm 35 ^b	<0,001
C16:1	11,8 \pm 3,3 ^a	23,7 \pm 3,7 ^b	24,4 \pm 4,0 ^{bc}	28,0 \pm 7,8 ^c	<0,001
C17:0	2,61 \pm 0,45 ^b	2,16 \pm 0,21 ^a	2,76 \pm 0,75 ^b	2,94 \pm 0,47 ^b	0,003
C18:0	108 \pm 25 ^a	194 \pm 20 ^b	180 \pm 41 ^b	124 \pm 13 ^a	<0,001
C18:1	54,0 \pm 8,8 ^a	90,4 \pm 14,1 ^b	81,6 \pm 15,6 ^b	89,8 \pm 20,2 ^b	<0,001
C18:2	65,0 \pm 8,6 ^a	67,0 \pm 12,7 ^a	94,3 \pm 12,5 ^b	103,7 \pm 21,8 ^b	<0,001
C20:3	5,58 \pm 1,75 ^a	7,43 \pm 1,69 ^a	14,6 \pm 4,1 ^b	16,4 \pm 4,5 ^b	<0,001
C20:4	81,0 \pm 17,8 ^b	134,7 \pm 16,7 ^d	105,9 \pm 31,3 ^c	59,8 \pm 14,3 ^a	<0,001
Summe	506 \pm 70 ^a	770 \pm 83 ^c	751 \pm 137 ^c	653 \pm 97 ^b	<0,001

Abk.: LC= lean Casein (fa/+), OC= obese Casein (fa/fa), OI50 = obese 50% Insektenprotein (fa/fa), OI100= obese 100% Insektenprotein (fa/fa)

Dargestellt sind Mittelwerte \pm Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d}
Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

Diese Ergebnisse der Konzentrationen der Sphingomyelin-Spezies im Plasma der Versuchstiere sind in Tabelle 41 dargestellt.

Bei Betrachtung der Sphingomyelin (SM)-Spezies im Plasma der Versuchstiere konnte festgestellt werden, dass die Konzentrationen aller dargestellten Vertreter in der OC-Gruppe gegenüber der LC-Gruppe signifikant erhöht waren. Die Gruppen OI50 und OI100 hatte eine dosisabhängige Verringerung der Konzentrationen aller SM-Vertreter gegenüber der OC-Gruppe zur Folge. Die Summe der Konzentrationen der SM-Spezies war in der LC-Gruppe signifikant niedriger als in der OC-Gruppe. Die Summe der Konzentrationen der SM-Spezies war in den Gruppen OI50 und OI100 signifikant niedriger als in der OC-Gruppe und signifikant höher als in der LC-Gruppe.

Tabelle 41: Konzentrationen individueller Sphingomyelin-Spezies im Plasma von schlanken Zuckerratten (LC) mit Casein als Proteinquelle sowie fettleibigen Zuckerratten mit Casein (OC), 50% Insektenmehl (OI50) oder 100% Insektenmehl (OI100) als Proteinquelle

Sphingomyelin, μM	LC	OC	OI50	OI100	p- Wert
SM C16:0	38,7 ± 8,1 ^a	67,9 ± 10,6 ^c	62,4 ± 15,5 ^{bc}	57,9 ± 12,2 ^b	<0,001
SM C16:1	3,18 ± 0,63 ^a	5,97 ± 0,81 ^c	5,13 ± 1,06 ^b	4,76 ± 0,85 ^b	<0,001
SM C18:0	2,53 ± 1,43 ^a	16,67 ± 3,44 ^d	9,12 ± 2,49 ^c	6,74 ± 2,19 ^b	<0,001
SM C24:0	19,3 ± 3,5 ^a	33,5 ± 4,0 ^c	29,5 ± 7,1 ^{bc}	27,5 ± 5,0 ^b	<0,001
SM C24:1	24,2 ± 5,7 ^a	55,9 ± 9,3 ^c	45,4 ± 11,2 ^b	43,6 ± 11,5 ^b	<0,001
Summe	87,9 ± 18,8 ^a	179,9 ± 22,6 ^c	151,6 ± 35,4 ^b	140,5 ± 28,3 ^b	<0,001

Abk.: LC= lean Casein (fa/+), OC= obese Casein (fa/fa), OI50 = obese 50% Insektenprotein (fa/fa), OI100= obese 100% Insektenprotein (fa/fa)

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung für n = 12 Tiere je Gruppe. ^{a, b, c, d}
Mittelwerte ohne gemeinsame Hochbuchstaben unterscheiden sich signifikant.

6 Diskussion

Einfluss von Insektenmehl als Proteinquelle auf die Triglyzerid- und Cholesterin-Synthese in der Leber fettleibiger Zuckerratten

In dieser Arbeit konnte eine deutliche Reduzierung von Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber fettleibiger Zuckerratten durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle gezeigt werden. Die Ergebnisse des Microarrays zeigten, nach Auswertung mit DAVID *Bioinformatics*, eine herunterregulierte Expression von Genen, welche in biologische Prozesse wie Cholesterinbiosynthese, Biosynthese ungesättigter Fettsäuren und den Metabolismus langkettiger Fettsäuren involviert sind. Die relativen mRNA-Konzentrationen ausgewählter Gene dieser Stoffwechselwege zeigten eine reduzierte Expression der SREBP-1 und SREBP-2 induzierten Gene. Die erhöhte bzw. reduzierte Expression von Zielgenen gibt in der Regel Auskunft über eine gesteigerte oder reduzierte Aktivität der zuständigen Transkriptionsfaktoren. Die Reduzierung der Transkriptionsfaktoren SREBP-1 und SREBP-2 konnten des Weiteren, auf Proteinebene mittels WesternBlot, dargestellt werden. SREBP-2 war durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle in der Leber der Versuchstiere signifikant reduziert. Für SREBP-1 konnte eine numerische Reduzierung durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle gezeigt werden, jedoch waren diese Ergebnisse nicht signifikant. Aktivitäten der G6PD und der FAS, stellvertretend für die Fettsäuresynthese, sowie der HMGCR, als Schlüsselenzym der Cholesterinsynthese, waren durch den Einsatz vom Insektenprotein im Vergleich zum Referenzprotein Casein in den fettleibigen Untersuchungsgruppen geringer. Eine histologische Untersuchung mittels Oil Red O Färbung zeigte ebenfalls geringere Triglyzeridgehalte in der Leber der Versuchstiere durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle. Eine Reduzierung der Konzentrationen von Triglyzeriden und Cholesterin im Plasma und der Leber fettleibiger Zuckerratten kann in dieser Arbeit auf eine reduzierte Fettsäuresynthese zurückgeführt werden und als SREBP-1- und SREBP-2-induziert dargestellt werden. Diese Ergebnisse lassen sich in der Literatur mit der Wirkung von Sojaprotein vergleichen. Eine reduzierte Triglyzerid-Einlagerung, durch eine reduzierte Triglyzerid-Synthese, vermittelt über Transkriptionsfaktoren (SREBPs) konnte durch den Einsatz von Sojaprotein, im Vergleich zu Casein, bewiesen werden (Tovar et al., 2005; Ascencio et al., 2004; Torres-Villalvazo et al., 2008; Mullen et al., 2004; Shin et al., 2007). Spielmann et al. (2007) konnten reduzierte Triglyzerid-Gehalte in Leber und im Plasma von Ratten durch den Einsatz von Lupinenproteinen sowie eine reduzierte Genexpression des Transkriptionsfaktors SREBP-1c zeigen, wodurch die reduzierten Triglyzerid- und

Cholesteringehalte auf eine verringerte Synthese von Triglyzeriden und Cholesterin zurückzuführen sind (Spielmann et al., 2007). Diese Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass die Wirkungen des in dieser Arbeit verwendeten Insektenmehls vergleichbar mit der triglyzerid- und cholesterinsenkenden Wirkung von Soja- und Lupinenprotein sind.

Diese reduzierten Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen stehen außerdem im Einklang mit der in der Literatur beschriebenen Wirkung von Insektenmehl bei fettleibigen Zuckerratten. In einem nachfolgenden Fütterungsversuch der Arbeitsgruppe (Meyer et al., 2019) wurde ebenfalls Casein durch Insektenmehl vollständig bei fettleibigen Zuckerratten ersetzt. Auch hier wurde im Versuchsdesign eine schlanke Kontrollgruppe mit Casein als Proteinquelle mitgeführt. Die schlanke Kontrollgruppe wies signifikant niedrigere Triglyzerid- und Cholesteringehalte im Plasma und in der Leber gegenüber der fettleibigen Caseingruppe auf. Die fettleibige Versuchsgruppe mit einem vollständigen Austausch von Casein als Proteinquelle mit Insektenmehl wies ebenfalls signifikant reduzierte Triglyzerid- und Cholesteringehalte im Plasma und in der Leber, im Vergleich mit der fettleibigen Caseingruppe, auf (Meyer et al., 2019). Die Genexpressionen der Stoffwechselwege der Triglyzerid- und Cholesterinsynthese stellten sich ebenfalls durch den Einsatz von Insektenmehl gegenüber Casein als Proteinquelle in fettleibigen Zuckerratten als signifikant reduziert dar (Meyer et al., 2019). Damit konnten die, in dieser Arbeit ermittelten Auswirkungen des Insektenmehls auf Triglyzerid- und Cholesteringehalte im Plasma und in der Leber zuverlässig reproduziert werden.

Eine vermehrte Ausscheidung von Gallensäuren hat eine gesteigerte *de-novo*- Synthese von Gallensäuren aus Cholesterin in der Leber zur Folge, dies führt zu reduzierten Cholesteringehalten (Tapola et al., 2008).

Möglicherweise liegt eine Beeinflussung der Cholesteringehalte durch eine gesteigerte Gallensäuren-Ausscheidung zu Grunde. *CYP7A1* gilt als Schrittmacher-Enzym der Gallensäuren-Synthese (Chiang, 2013). Eine erhöhte Gallensäuren-Ausscheidung führt zu einer erhöhten *de-novo* Gallensäuren-Synthese. *CYP7A1* stellte sich in dieser Arbeit als erhöht exprimiert durch den Einsatz von Insektenmehl gegenüber der fettleibigen Casein-Gruppe dar. Eine 20-fache Hochregulierung der *CYP7A1* aus dem Microarray gibt weiter einen Anhaltspunkt einer möglichen Beeinflussung der Cholesteringehalte in Plasma und in der Leber, durch vermehrte Gallensäuren-Ausscheidung in dieser Arbeit.

Als eine mögliche Beeinflussung der in dieser Arbeit gezeigten, reduzierten Cholesteringehalte im Plasma und in der Leber soll das Chitin an dieser Stelle diskutiert werden.

Chitosan stellt die deacetylierte Form des Chitins (Furda, 1983) dar und zeigte in zahlreichen Tierstudien eine cholesterin- und triglyceridsenkende Wirkung (Zhang et al., 2008; LeHoux und Gondin, 1993; Razdan und Petterson, 1996; Sugano et al., 1978, 1980). Chitin und das deacetylierte Chitosan binden Sterole im Chymus und erhöhen so deren Ausscheidung. Eine hepatische *de-novo*-Synthese von Gallensäuren aus Cholesterol wird durch Chitin stimuliert (Tapola et al., 2008).

Im Insektenmehl, welches in dieser Arbeit verwendet wurde, konnte ein Chitingehalt von 12,8% ermittelt werden. Damit sind in der Diät mit einer 50%igen Substitution der Proteinquelle 1,7% und bei vollständigem Austausch durch Insektenmehl 3,4% Chitin enthalten. Moon et al. (2007) fanden beim Einsatz von 2% Chitosan in der Diät von Ratten eine signifikante Reduzierung der Cholesterin-Konzentrationen im Plasma, Triglyzeride waren nicht signifikant verändert. Signifikant reduzierte Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen in der Leber waren bei einem Einsatz von 5% Chitosan in der Diät zu beobachten (Moon et al., 2007). So kann eine Reduzierung der Cholesterin-Konzentrationen im Plasma erklärt werden, jedoch nicht die reduzierten Konzentrationen von Triglyzeriden im Plasma und die reduzierten Konzentrationen von Triglyzeriden und Cholesterin in der Leber der Versuchstiere, welche in dieser Arbeit zu beobachten waren. Hsieh et al. (2012) setzten 5% und 7% Chitosan in der Diät von diabetischen Ratten ein und konnten eine reduzierte Insulinresistenz und geringere Fettakkumulierung in der Leber und im Fettgewebe feststellen (Hsieh et al., 2012). Die errechneten Chitin-Gehalte dieser Arbeit erreichen nicht die Werte, welche in den Arbeiten von Moon et al. (2007) und Hsieh et al. (2012) eingesetzt wurden und zu reduzierten Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen führten, dennoch ist die Wirkung des Chitins nicht außer Acht zu lassen und weitere Untersuchungen für eine endgültige Klärung sind erforderlich.

In einer Arbeit von Salter (2019) wurde die Veröffentlichung von Gessner et al. (2019), welche im Rahmen dieser Arbeit entstand, kommentiert und darauf hingewiesen, dass weitere Untersuchungen nötig seien, um den Einfluss des Chitins auf die gezeigten Ergebnisse endgültig klären zu können. Auch die Untersuchung auf mögliche, im Insektenmehl, enthaltene Peptide, welche unverdaulich sind und die Absorption im Dünndarm beeinflussen (Lovati et al., 2000) seien Ansatzpunkte für weitere Untersuchungen. (Salter, 2019).

Betrachtung der möglichen Beeinflussung der β -Oxidation auf reduzierte Triglyzerid-Konzentrationen in der Leber fettleibiger Zuckerratten

Fettsäuren werden in der Leber durch die β -Oxidation abgebaut. Gene der β -Oxidation werden durch den nukleären Transkriptionsfaktor PPAR α induziert. Die lipidsenkende Wirkung von Sojaprotein ist vielseitig und über mehrere Signalwege gesteuert. Zum einen führt eine reduzierte Expression der SREBP-Transkriptionsfaktoren und deren Zielgene und einer damit verbundenen reduzierten Fettsynthese (Tovar et al., 2005; Ascencio et al., 2004; Torres-Villalvazo et al., 2008; Mullen et al., 2004; Shin et al., 2007) und zum anderen eine Aktivierung nukleärer Transkriptionsfaktoren wie PPAR α , PPAR γ und Leber-X-Rezeptoren alpha (LXR α) und deren Zielgene, welche eine gesteigerte Oxidation von Fettsäuren induzieren, zu der lipidsenkenden Wirkung des Sojaproteins (Mezei et al., 2003, 2006; Ricketts et al., 2005; Tovar et al., 2005; Badger et al., 2008). Mezei et al. (2003) konnten einen Abbau von Fettsäuren und eine Aktivierung von PPAR durch den Einsatz von Sojaprotein bei fettleibigen Zuckerratten zeigen (Mezei et al., 2003). In einer weiteren Studie der selben Arbeitsgruppe konnte eine verringerte Triglyzerid-Konzentration im Serum von PPAR-Knockout-Mäusen durch isoflavonreiches Soja festgestellt werden. Der PPAR α -Agonist Fenofibrat zeigte keinen Einfluss auf Serum-Triglyzeride von PPAR-Knockout-Mäusen. Die verringerten Triglyzerid-Konzentrationen im Serum der PPAR-Knockout-Mäuse durch isoflavonreiches Soja führte die Autoren zu der Vermutung, dass es neben der PPAR α -Aktivierung einen weiteren PPAR α -unabhängigen Mechanismus geben muss (Mezei et al., 2006).

Bei Betrachtung der Ergebnisse der PPAR α -induzierten Geneexpressionen der β -Oxidation und der DNA-Bindungsaktivität aus dem EMSA kann keine deutliche Aktivierung oder Inhibierung des PPAR α durch das Insektenmehl festgestellt werden. Die Wirkungsweise des Insektenproteins ist damit nicht mit der des Sojaproteins vergleichbar. Die reduzierten Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen sind demnach nicht, wie in der Literatur für Sojaprotein beschrieben, auf eine vermehrte β -Oxidation zurückzuführen. Dennoch ist eine vermehrte Oxidation von Fettsäuren in den Mitochondrien möglich. Die Ergebnisse des Microarrays liefern hierfür Hinweise. Zahlreiche Acyl-CoA Thioesterasen (*ACOT*) stellten sich im Vergleich der Gruppe OI100 mit der Gruppe OC als vermindert exprimiert dar. *ACOT1* zeigte die zweitstärkste Herunterregulierung mit einem FC von -5,51. Die genaue Wirkungsweise der *ACOTs* ist noch nicht geklärt (Tillander et al., 2017). Es ist bekannt, dass *ACOTs* die Hydrolyse von Fettsäuren-Acyl-CoA-Komplexen katalysiert. Ein *ACOT1*-

Knockdown führt in der Leber von Mäusen zu einer verringerten Akkumulierung von Triglyzeriden und *in vitro* kann, bei *ACOT*-Ausschaltung, eine verstärkte Oxidation von Fettsäuren beobachtet werden (Franklin et al., 2017).

So könnte für die vorliegende Arbeit eine erhöhte Oxidation von Fettsäuren in der Leber erklärt werden, die nicht PPAR α -induziert sind und der beobachtete Effekt der verringerten Triglyzerid-Konzentrationen nicht alleine auf eine verringerte Synthese zurückzuführen sind. Im Microarray zeigte sich der „PPAR-Signalweg“ mit einem FC von 5,2 verstärkt exprimiert. Die Software DAVID *Bioinformatics* ordnet diesem Stoffwechselweg folgende Gene zu: Acyl-CoA Oxidase 2 (*ACOX2*), Cytochrom P450 family 7 subfamily A member 1 (*CYP7A1*), Peroxisome Proliferator aktivierter Rezeptor γ (*PPARG*), Phosphoenolpyruvat Carboxykinase 2 (*PCK2*) und Cytochrom P450 family 8 subfamily B member 1 (*CYP8B1*), welche durch die *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) den PPAR γ -induzierten Genen zugeschrieben werden (Yang et al. 2014). Die Gene *CYP7A1* und *CYP8B1* werden demnach den Stoffwechselweg der Cholesterin-Biosynthese zugeschrieben. *ACOX2* gilt als Enzym der Fettsäuren-Oxidation und stellte sich in der qPCR-Messung durch das Insektenmehl als dosisabhängig erhöht exprimiert dar. *PCK2* ist in die Gluconeogenese involviert (Yang et al., 2014). Der Transkriptionsfaktor PPAR γ (*PPARG*) selbst stellte sich im Microarray verstärkt exprimiert dar. Die PPAR-Transkriptionsfaktoren werden in drei Untergruppen eingeteilt; PPAR α , PPAR β/δ und PPAR γ (Ferré, 2004; Brown und Plutzky, 2007; Abbott, 2009; Rakhshandehroo et al., 2010; Contreras et al., 2013). PPAR α ist überwiegend in der Leber zu finden und dessen Zielgene sind in katabolische Prozesse des Lipidstoffwechsels involviert, wie Fettsäure-Aufnahme durch die Membran, Fettsäure-Bindung in den Zellen, mikrosomale, peroxisomale und mitochondriale Fettsäuren-Oxidation und Fettsäure-Transport (Kersten et al. 2000). PPAR γ ist vor allem im Fettgewebe exprimiert und dort vor allem in die Einlagerung von Fettsäuren involviert. PPAR γ ist Teil des Differenzierungsprogramms von Adipocyten (Rosen et al., 1999). Zielgene von PPAR γ sind im Fettgewebe die Lipoprotein-Lipase (LPL), fettsäurebindende Proteine (*FABP*), Acyl-CoA Synthase und fettsäuretransportierende Proteine (*FATP*) (Kersten et al., 2000).

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen keine Rückschlüsse auf eine PPAR α -induzierte Beeinflussung des Triglyzeridgehaltes im Plasma und in der Leber der Versuchstiere zu.

Einfluss von Insektenmehl als Proteinquelle auf die Konzentrationen von Phosphatidylcholin, Lysophosphatidylcholin und Sphingomyelin im Plasma fettleibiger Zuckerratten

Der Phospholipid-Metabolismus ist für die Regulierung des Lipid-, Lipoprotein- und Ganzkörper-Energiestoffwechsels von Bedeutung (van der Veen et al., 2017). PCs sind Bestandteil der tierischen und der pflanzlichen Zellmembran (Jackowski et al., 1991). In der Leber erfolgt die Synthese von PC aus Phosphatidylethanolamin (PE) mit Hilfe der PE N-Methyltransferase (*PEMT*) (Vance et al., 1997; Van der Veen et al., 2012). Über den Diacylglycerin-Acyltransferase Weg werden aus PCs Diacylglyceriden synthetisiert, welche wiederum zu Triglyzeriden zusammengefügt werden. Über eine erhöhte SAM-Produktion ist der Glycerolipidmetabolismus mit dem Metabolismus des Methionins verbunden, da SAM die Methylierung der PEs in der Leber stimuliert (Van der Veen et al., 2012). Ein erhöhtes, hepatisches PC:PE-Verhältnis wird mit der Entwicklung einer Fettleber in Verbindung gebracht (Niebergall et al., 2011; Li et al., 2006)

Bei Mäusen mit einem Glycin-N-Methyltransferase (*GNMT*) – Mangel ist die SAM-Konzentration in der Leber deutlich erhöht. Dies führt zu einer Erhöhung des PC: PE-Verhältnisses in der Leber und aufgrund der daraus resultierenden, erhöhten Triglyzerid-Synthese in der Leber zu einer Lebersteatose (Van der Veen et al., 2012). Eine restriktive Methionin-Fütterung dieser Mäuse führt zu reduzierten SAM-Konzentration in der Leber und normalisiert so die Konzentrationen von PC und PE und damit das PC: PE-Verhältnis und die Triglyzerid-Konzentrationen in der Leber auf die Werte vom Wildtyp (Van der Veen et al., 2012).

In der fettleibigen Casein-Gruppe zeigte sich eine im Vergleich zur schlanken Casein-Gruppe eine erhöhte Phosphatidylcholin-Konzentration im Plasma, während die mehrfach ungesättigten Vertreter, C36:4; C38:4, C38:5 sowie C38:6, in den Gruppen OI50 und OI100 durch Insektenmehl als Proteinquelle im Vergleich zur fettleibigen Caseingruppe dosisabhängig reduziert waren. Meyer et al. (2019) zeigten ein signifikant erhöhtes PC:PE-Verhältnis der fettleibigen Zuckerratten im Vergleich mit der Gruppe der schlanken Zuckerratten bei Casein als Proteinquelle. Der Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle führte zu einem signifikant reduzierten PC:PE-Verhältnis im Vergleich zu Casein als Proteinquelle bei fettleibigen Zuckerratten (Meyer et al., 2019). Diese Beobachtung gibt einen Hinweis auf den antisteatotischen Effekt des Insektenmehls. Sowohl Studien mit Nagern, als auch mit Menschen zeigten, dass das PC:PE-Verhältnis als ein Schlüsselfaktor für

Lebergesundheit und Entwicklung einer Fettleber ist (Li et al. 2006, Kharbanda et al. 2007, Niebergall et al. 2011).

Sphingomyeline werden auch Sphingophospholipide bezeichnet und gehören dementsprechend zur Gruppe der Phospholipide und Sphingolipide. Zusammengesetzt werden diese aus einem hydrophilen Kopf und zwei hydrophoben Kohlenwasserstoffschwänzen. Die C2-Aminogruppe bindet über eine Amidbindung eine Fettsäure, während die C1-Hydroxygruppe eine Phosphatgruppe über eine Phosphoesterbindung verknüpft. Sphingomyelin ist ein Bestandteil der eukaryotischen Zellmembran, besonders hohe Sphingomyelin-Konzentrationen sind an der Membran der Nervenzellen zu finden (Alberts et al., 2007; Stryer et al., 2007; Voet und Voet, 2004). Der Sphingolipidmetabolismus spielt eine Schlüsselrolle in der Regulierung eines Entzündungsgeschehens (Maceyka und Spielgel, 2014). Ein chronisches Entzündungsgeschehen trägt zur Entwicklung zahlreicher metabolischer Problematiken, wie *Diabetes mellitus* oder nichtalkoholischer Fettlebererkrankung, bei (Cani et al., 2007). In dieser Arbeit konnten dosisabhängige, verringerte Sphingomyelin-Konzentrationen im Plasma durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle gezeigt werden.

In der Literatur ist eine Beeinflussung des Lipidstoffwechsels über eine reduzierte Elongation und Desaturierung beschrieben. Die Beeinflussung von Sojaprotein, als Proteinquelle, auf den Lipidstoffwechsel ist vielseitig. Zum einen werden die Konzentrationen von Triglyzeriden und Cholesterin in Plasma und Leber reduziert (Koba et al., 2003; Iritani et al., 1996; Sugiyama et al., 1996; Tovar et al., 2002; 2005; Ascencio et al., 2004) und zu anderen wird die Lipidzusammensetzung der Phospholipide der Membran und der microsomalen Membran verändert. Die Aktivität der $\Delta 6$ -Desaturase stellt sich reduziert dar (Sugiyama et al., 1996; 1997; Madani et al., 1998; Osada et al., 1999). Die gezeigten reduzierten Expressionen von Elongation und Desaturierung durch das Insektenmehl ist demnach vergleichbar mit der Wirkungsweise des Sojaproteins. Im Microarray konnte im Vergleich OI100 gegen OC eine herunterregulierte Genexpression der Elongation von Fettsäuren festgestellt werden (FC – 10,6). Dies lässt den Rückschluss zu, dass nicht nur die *de-novo*-Synthese der Fettsäuren reduziert wird, sondern auch die Elongation langkettiger Fettsäuren, wie C18, C20 und C22, und deren Desaturierung ebenfalls beeinflusst ist. Bei der *de-novo*-Fettsäuren-Synthese entstehen vornehmlich C16:0-Fettsäuren. Die Genexpressionen in der Leber, der hierfür verantwortlichen Gene, *SCD2*, *FADS1*, *FADS2*, *ELOVL5* und *ELOVL6*, zeigten sich durch den Einsatz von Insektenmehl deutlich reduziert. Im Microarray zeigte sich die *SCD2* als stark herunterreguliert im Vergleich der Gruppe OI100 mit der OC-Gruppe. Es konnte ein FC von -9,59 ermittelt werden. Für den

Vergleich der OI50-Gruppe mit der OC-Gruppe ergab sich ein FC von -6,21. Die reduzierte Expression der *SCD2* stellt sich damit vom Einsatz des Insektenmehls dosisabhängig dar.

Aus den hier diskutierten Ergebnissen können möglicherweise Hinweise geliefert werden, dass der Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle zu einer Reduktion der Desaturierung und einer verringerten Triglyzerid-Synthese führt.

Betrachtung einer möglichen Beeinflussung eines niedrigen Methioningehaltes im Insektenmehl auf Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Plasma und in der Leber fettleibiger Zuckerratten

Insektenmehl verfügt, ähnlich wie die Leguminosen Soja und Lupine, über einen geringen Methionin-Gehalt im Vergleich zu Casein (Churchward-Venne et al., 2017). In einer Studie von Tovar et al. (2002) wurde Sojaprotein im Vergleich mit Casein als Proteinquelle gefüttert und es konnte eine Reduzierung der Homocystein-Konzentration im Plasma festgestellt werden (Tovar et al., 2002). Der Methionin-Gehalt in den Versuchsdiäten der vorliegenden Arbeit wies für die Casein-Diät 5,52 g pro kg Diät, für die Diät mit 50% Insektenmehl und 50% Casein als Proteinquelle 3,65 g pro kg Diät und für die Diät mit 100% Insektenmehl 2,13 g pro kg Diät auf. Die limitierende Aminosäure ist der Schlüsselfaktor des Wachstums. Die fettleibigen Versuchsgruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtszunahme, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass die für das Wachstum erforderliche Methioninmenge in allen Versuchsdiäten in ausreichender Menge vorlag. Der Bedarf von 2,3 g Methionin + Cystein pro kg Diät für ausgewachsene Ratten wird durch die Insektenmehl-Diäten gedeckt (National Research Council, 1995). Der Methionin-Gehalt einer Diät beeinflusst Lipid- und Cholesteringehalte in Plasma und in der Leber. Eine hohe Methionin-Aufnahme zeigte in einer Tierstudie einen hyperlipidämischen Effekt (Hirche et al., 2006a). Überschüssiges Methionin wird zu Homocystein demethyliert (Hirche et al., 2006b). Dieses Homocystein hat eine hyperlipidämische Wirkung (Werstuck et al., 2001) und gilt als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen (Virtanen et al., 2006). Homocystein wird entweder mit Hilfe der Vitamin-B6-abhängigen Cystathionin-Synthetase über Cystathionin zu Cystein, unter Serin-Verbrauch, abgebaut oder durch das Vitamin B12-abhängige Tetrahydrofolsäure-System zu Methionin remethyliert (Weiß, 2003).

Die Homocystein-Konzentrationen in der Leber der Versuchstiere dieser Studie zeigte eine dosisabhängige Reduzierung durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle. Das Methionin-Homocystein-Glutathion-Systeme zeigte bei der Untersuchung relativer mRNA-Konzentrationen keine deutliche Reduzierung der Genexpressionen durch das Insektenmehl als

Proteinquelle im Vergleich mit Casein als Proteinquelle. Die Cystathion- β -Synthase zeigt in der relativen mRNA-Messung mittel qPCR durch den Einsatz von Insektenmehl dosisabhängig verstärkt exprimiert im Vergleich mit der OC-Gruppe und der Vitamin B6-Stoffwechsel zeigt sich im Microarray als am stärksten hochregulierter Stoffwechselweg im Vergleich der Gruppen OI100 und OC. Die Biosynthese von Serin zeigt sich im Microarray als ein stark hochregulierter biologischer Prozess (52,5-fach erhöht). Das Produkt Cystein zeigt in der Leber der OI100-Gruppe hingegen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der OC-Gruppe. Die Cystein-Konzentration im Plasma war durch den Einsatz von Insektenmehl gegenüber der fettleibigen Casein-Gruppe erhöht. Im Plasma der Versuchstiere konnten keine Konzentrationsunterschiede des Homocysteins innerhalb der fettleibigen Untersuchungsgruppen festgestellt werden.

Die unveränderten Expressionen von Genen, die im Methionin-Homocystein-Glutathion-Systemes eine Rolle spielen, lassen den Rückschluss zu, dass die beobachtete Reduzierung der Homocystein-Konzentration in der Leber auf den geringen Methioningehalt zurückzuführen ist. Der Microarray hingegen gibt mögliche Anhaltspunkte eines verstärkten Abbaus von Homocystein in der Leber.

Die gezeigten Ergebnisse dieser Arbeit können mit den Untersuchungen von Meyer et al. (2019, 2020a) verglichen und gedeutet werden.

Meyer et al. (2019) führten einen Fütterungsversuch mit Insektenmehl als Proteinquelle bei Zuckerratten durch. Hier wurde einer schlanken und einer fettleibigen Gruppe das Referenzprotein Casein gefüttert und einer weiteren fettleibigen Untersuchungsgruppe Insektenmehl als Proteinquelle. Es erfolgte unter anderem eine umfangreiche Lipidom-Analyse von Plasma und Leber der Versuchstiere. Zur Untersuchung der Verdaulichkeit des Rohproteins, des Rohfettes und der Rohasche des Insektenmehls wurde Titandioxid der Diät hinzugegeben und eine reduzierte Verdaulichkeit des Insektenmehls um 12% gegenüber der Caseindiät festgestellt. Die Lipidomanalyse in der Leber der Versuchstiere ergab ein reduziertes Verhältnis von Phosphatidylcholin (PC) zu Phosphatidylethanolamin (PE) durch das Insektenmehl. Ein erhöhtes PC:PE-Verhältnis wird in der Literatur als kritisch beschrieben, da PC in der Leber zu Diacylglycerol katabolisiert wird (Van der Veen et al., 2012). Diacylglycerol ist ein Substrat für die Triglyzerid-Synthese (Van der Veen et al., 2012, Martinez-Uña et al., 2013). Eine erhöhte SAM-Produktion stimuliert die hepatische Methylierung von PE zu PC und erhöht so das PC:PE-Verhältnis (Van der Veen et al., 2012) und wird mit durch die vermehrte Lipidsynthese mit Leberverfettung in Verbindung gebracht (Li et al., 2006; Kharbanda et al., 2007; Niebergall et al., 2011). Als Schlüssel-Mechanismus wurde eine reduzierte Verfügbarkeit

von SAM durch die im Insektenmehl geringer Konzentration der Aminosäure Methionin identifiziert (Meyer et al., 2019). Die restriktive Aufnahme der Aminosäure Methionin ist nicht gleichzusetzen mit einem Methionin-Mangel. Sowohl Meyer et al. (2019) als auch die Diäten dieser Arbeit deckten den Bedarf einer adulten Ratte von 2,3 g Methionin und Cystein je kg Diät (National Research Council, 1995). Ein Methionin-Mangel führte bei Mäusen zur Entwicklung einer Fettleber, dies entspricht also der gegenteiligen Wirkung einer restriktiven Methionin-Diät (Itagaki et al., 2013; Kim et al., 2017).

Meyer et al. (2020a) führten einen weiteren Fütterungsversuch mit Insektenmehl bei Zuckerratten durch. Es wurden fünfzig männliche, fettleibige Zuckerratten in fünf Gruppen eingeteilt. Einer Gruppe wurde Casein als Referenzprotein gefüttert. Eine Weitere erhielt, wie in der vorangegangenen Studie (Meyer et al., 2019) und im Versuch der vorliegenden Arbeit, Insektenmehl als Proteinquelle. In den drei anderen Versuchsgruppen wurden unterschiedliche Aminosäuren zum Insektenmehl als Proteinquelle hinzugegeben. Eine dieser Gruppe erhielt Methionin, eine Gruppe bekam Methionin und Cystein und eine letzte Gruppe schließlich Methionin, Cystein und zusätzliche essentielle Aminosäuren, um die Aminosäuregehalte an die des Insektenmehls anzupassen. Die Ergebnisse zeigten eine cholesterin- und triglyzeridsenkende Wirkung in der Leber aller Insektenmehlgruppen gegenüber der Casein-Kontrollgruppe. Dies bedeutet, dass der geringe Methioningehalt nicht die Ursache für die gezeigten reduzierten Gehalte von Triglyzeriden und Cholesterin sein kann (Meyer et al., 2020a). Die triglyzerid- und cholesterinsenkende Wirkung dieser Arbeit sind mit den Untersuchungen von Meyer et al. (2019,2020a) vergleichbar. Die triglyzerid- und cholesterinsenkende Wirkung des Insektenmehls ist damit wahrscheinlich nicht auf die reduzierte Methionin-Konzentration im Insektenmehl zurückzuführen.

Auf der Suche nach weiteren Substanzen, die im Insektenmehl vorkommen und verantwortlich für reduzierte Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen sein können untersuchten Marschall et al. (2021) die Wirkung von Ecdysteron in einem Fütterungsversuch mit schlanken und fettleibigen Zuckerratten (Marschall et al. 2021).

Ecdysteron ist eine Klasse der Steroidhormone die in Insekten und Pflanzen vorkommen. In Pflanzen werden diese als Phytoecdysterioide bezeichnet und dienen der Abwehr von Fressfeinden. In Insekten spielen sie eine Rolle in wichtigen Entwicklungsprozessen wie der Embryogenese, der Häutung, der Metamorphose, der Fortpflanzung und der Diapause, hier werden sie als Zooecdysterioide bezeichnet (Gilbert et al., 1980, Dinan, 2001). Die Klasse der Ecdysterioide umfasst eine Vielzahl unterschiedlicher Analoga, 20-Hydroxyecdysteron gilt als Hauptvertreter. Aufgrund der Bedeutung hängt die Konzentration in der Haemolymphe vom

Entwicklungsstadium der Insekten ab (Delbecque et al., 1978, Truman, 2019). Ecdysteroide sind wirksame Toxine oder Fresshemmer gegen Wirbellose, jedoch für Säuger scheinbar ungiftig, hier zeigen sie eine antiobesogene, hypoglykämische und proteinanabole Wirkung (Kizelsztejn et al., 2009, Foucault et al., 2014, Parr et al., 2014). Naresh Kumar et al. (2013) berichteten über reduzierte Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen in Plasma und in der Leber Streptozocin-induzierter steatotischer, männlicher Wistar-Ratten durch Ecdysteron (Naresh Kumar et al., 2013). Buniam et al. (2020) hingegen konnten keine Beeinflussung der Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen im Serum ovariektomierter Sprague-Dawley-Ratten mit fett- und fruktosereicher Diät durch verschiedene Ecdysterongaben feststellen (Buniam et al., 2020). Marschall et al. (2021) untersuchten eine mögliche Beeinflussung durch Ecdysteron auf eine triglyzerid- und cholesterinsenkende Wirkung bei schlanken und fettleibigen Zuckerratten. Hierfür wurden fettleibigen und schlanken Zuckerratten eine Diät mit oder ohne Ecdysteron-Supplementierung gefüttert. Es konnte weder bei fettleibigen, noch bei schlanken Zuckerratten eine Beeinflussung durch Ecdysteron auf Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen in Plasma und in der Leber festgestellt werden (Marschall et al. 2021). Dies zeigt, dass Ecdysteron nicht verantwortlich für die in dieser Arbeit gezeigten reduzierten Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen sein kann.

Schlussfolgerung und Ausblick

Es besteht ein zunehmender Bedarf an alternativen Proteinquellen, um den weltweiten Bedarf an Protein auch zukünftig decken und auf effiziente und nachhaltige Weise herstellen zu können. Proteinreiches Insektenmehl bietet ein großes Potenzial, das effizient aus der großflächigen industrialisierten Massenaufzucht von essbaren Insekten wie dem gelben Mehlmurm (*Tenebrio molitor*) hergestellt werden kann. Im Vergleich zur Produktion von tierischen Proteinen aus Nutztieren sind die Umweltauswirkungen der Insektenaufzucht geringer, da die Futtermittelverwertung in Insektenbiomasse deutlich höher ist, weniger natürliche Ressourcen erforderlich sind und die Treibhausgasemissionen geringer sind (Churchward-Venne et al., 2017).

Die Wissenschaft steht am Anfang der Erforschung alternativer Proteinquellen, welche in naher Zukunft weiter erforscht werden müssen, um den bevorstehenden Herausforderungen gewachsen zu sein.

Mit dieser Arbeit wurden mögliche Auswirkungen auf den Lipidstoffwechsel durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle, untersucht. Die deutliche Reduzierung von Triglyzeriden und Cholesterin im Plasma und in der Leber fettleibiger Zuckerratten konnte gezeigt werden.

Welche Komponente des Insektenmehls hierfür verantwortlich ist, kann mit der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden. Den genauen Wirkmechanismus gilt es in weiteren Untersuchungen aufzuklären.

Auch die Betrachtung anderer Gewebe, wie das Fettgewebe oder der Gefäße oder der Muskulatur, stellen interessante Ansätze für weitere Untersuchungen dar. Der Microarray lieferte Hinweise auf eine gesteigerte PPAR γ -Aktivität. PPAR γ wird vor allem im Fettgewebe exprimiert und ist dort in der Fettsäuren-Einlagerung involviert und Teil des Differenzierungsprozesses von Fettzellen (Rosen et al. 1999). Möglicherweise werden Prozesse des Lipidstoffwechsels in der Fettzelle durch das Insektenmehl beeinflusst und sind interessante Ansatzpunkte für eine verbesserte metabolische Gesundheit. Da Hyperlipidämie als Risikofaktor für Artherosklerose in allen Gefäßen gilt (Hennekens und Gaziano, 1993; Baradaran, 2012), stellen Untersuchungen einer möglichen Beeinflussung des Insektenmehls auf die Gefäße ebenfalls eine interessante Grundlage dar.

Die im Rahmen dieser Arbeit gezeigten reduzierten Konzentrationen von Triglyzeriden und Cholesterin in Plasma und in der Leber können für die Humanernährung von Bedeutung sein, wenn berücksichtigt wird, dass Hyperlipidämie ein Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist und dass Fettlebererkrankungen neben der Förderung der Entwicklung von Steatohepatitis, Fibrose, Zirrhose und hepatozellulärem Karzinom auch das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen erhöhen (Gastaldelli et al., 2009). Die Ergebnisse dieser Arbeit legen die Vermutung nahe, dass Insektenmehl ein großes Potenzial zur Verbesserung der Stoffwechselgesundheit hat. Auch aus der Sicht des Umweltbewusstseins und dem Schonen von Ressourcen sind die Larven von *Tenebrio molitor* vielversprechend.

Für die vorliegende Arbeit kann die Frage nach der verantwortlichen Komponente des verwendeten Insektenmehls für die gezeigten triglyzerid- und cholesterinsenkenden Wirkungen in Plasma und in der Leber nicht beantwortet werden. Der geringe Methionin-Gehalt als Ursache für die gezeigten Ergebnisse konnte in der weiterführenden Untersuchung von Meyer et al. (2020a) widerlegt werden. Auch eine Beeinflussung durch Ecdysteron kann durch die Untersuchungen von Marschall et al. (2021) als Ursache für die gezeigten Ergebnisse ausgeschlossen werden. Möglicherweise führen der Chitin-Gehalt, aber auch bisher nicht betrachtete Inhaltsstoffe des Insektenmehls zu den gezeigten Ergebnissen.

7 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von Insektenmehl als alternative Proteinquelle, hergestellt aus den Larven des Mehlkäfers (*Tenebrio molitor L.*) auf den Fettstoffwechsel fettleibiger Zuckerratten zu untersuchen. In Anbetracht der zukünftigen Herausforderungen in der Futter- und Lebensmittelsicherung steht der Fokus der Forschung derzeit auf alternativen Proteinquellen, wie Insekten. Insekten stellen eine attraktive, alternative Proteinquelle dar, da diese ökonomische und ökologische Vorteile mit sich bringen. Aufgrund des geringen Methioningehaltes, vergleichbar mit der Sojabohne, wurde eine lipid- und cholesterinsenkende Wirkung postuliert.

Zur Untersuchung der Hypothese wurde ein vierwöchiger Fütterungsversuch mit 12 schlanken und 36 fettleibigen Zuckerratten durchgeführt. Die schlanke und eine fettleibige Gruppe erhielten eine Diät mit Casein, als Referenzprotein, während bei zwei weiteren, fettleibigen Untersuchungsgruppen Casein durch Insektenmehl ersetzt wurde, so dass 50% oder 100% der Proteinquelle durch Insektenmehl zur Verfügung gestellt wurde. Es wurden Daten zur Gewichtsentwicklung und der Futtermittelaufnahme erhoben. Um beeinflusste Stoffwechselwege identifizieren zu können, wurde ein Microarray in der Leber durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit der Software DAVID *Bioinformatics* ausgewertet und mittels qPCR validiert und Genexpressionen der Fettsäurensynthese, der Cholesterinsynthese, der β -Oxidation, des Carnitin-Stoffwechsels, des Methionin-Homocystein-Glutathion-Systems und der Elongation und Desaturierung von Fettsäuren untersucht. Im Plasma und in der Leber wurden die Konzentrationen von Triglyceriden, Cholesterin, Carnitin sowie Homocystein und seinen Metaboliten gemessen. Eine Metabolomanalyse im Plasma wurde durchgeführt. Im *M. rectus femoris* erfolgt eine Carnitin-Bestimmung. Expressionen von Genen der betrachteten Stoffwechselwege wurden mittels PCR gemessen. Auf Proteinebene erfolgte die Untersuchung der Transkriptionsfaktoren *Sterol regulatory element-binding protein -1* (SREBP-1) und *Sterol regulatory element-binding protein -2* (SREBP-2) mittels WesternBlot und die Bindungsaktivität von *Peroxisom proliferator activating receptor α* (PPAR α) mit Hilfe eines *Electrophoretic mobility shift assays* (EMSA). Die Aktivitäten der Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (G6PD), der *Fatty acid synthetase* (FAS) und der 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzym A (HMGCR) wurden in der Leber bestimmt. Histologisch wurden Leberproben mit einer Oil Red O Färbung aufgearbeitet.

Es konnte eine deutliche triglyzerid- und cholesterinsenkende Wirkung im Plasma und in der Leber der Versuchstiere, durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle, festgestellt

werden. Homocystein stellte sich durch das Insektenmehl dosisabhängig reduziert im Plasma und in der Leber dar. Durch das Insektenmehl waren im Plasma und im *M. rectus femoris* Carnitin- und Acetylcarnitin-Konzentrationen erhöht. In der Leber waren die Carnitin-Gehalte innerhalb der fettleibigen Gruppen unbeeinflusst. Die Konzentration von Acetylcarnitin war durch das Insektenmehl in der Leber erhöht.

Die Auswertung des Microarrays zeigte im Vergleich der fettleibigen Insektenmehlgruppe mit 100% Insektenmehl als Proteinquelle gegen die fettleibige Caseingruppe reduzierte Genexpressionen der biosynthetischen Prozesse von Sterolen, Cholesterin und ungesättigten Fettsäuren sowie metabolische Prozesse langkettiger Fettsäuren.

In weiteren Untersuchungen der Genexpressionen konnten mittels qPCR reduzierte Genexpressionen ausgewählter SREBP-1- und SREBP-2-induzierter Gene durch den Einsatz von Insektenmehl als Proteinquelle dargestellt werden. PPAR α -induzierte Zielgene zeigten keine Beeinflussung der Genexpressionen durch das Insektenmehl. Für Genexpressionen der Homocystein-Synthese konnten keine Beeinflussungen durch das Insektenmehl festgestellt werden. Gene der Elongation und Desaturierung waren durch das Insektenmehl geringer exprimiert.

Die Proteinkonzentrationen der Transkriptionsfaktoren SREBP-1 und SREBP-2 waren durch das Insektenmehl reduziert, wobei SREBP-1 keine signifikanten Unterschiede aufwies. Die PPAR α -Bindungsaktivität, mittels EMSA bestimmt, zeigte keine Aktivierung von PPAR α . Die Enzym-Aktivitäten von FAS, G6PD und HMGCR waren durch das Insektenmehl reduziert. Die histologischen Schnitte mit Oil Red O Färbung zeigten geringere Lipidgehalte der Ratten, deren Diät Insektenmehl enthielt.

Die reduzierten Fett- und Cholesteringehalte können auf eine verringerte Synthese, jedoch nicht auf eine verstärkte PPAR α -vermittelte Oxidation der Fettsäuren zurückgeführt werden. Die Ursache der gezeigten Ergebnisse kann zum derzeitigen Stand nicht erklärt werden.

Insekten liefern ein großes Potential als Lebensmittel, die metabolische Gesundheit der Menschen zu verbessern. Insekten scheinen eine vielversprechend Alternative einer Proteinquelle für Mensch und Tier zu sein.

8 Summary

The aim of the present work was to investigate the effect of insect meal as an alternative protein source, produced from mealworm larvae (*Tenebrio molitor L.*) on the lipid metabolism of obese Zucker rats. In view of the future challenges in food and feed security, research is currently focusing on alternative protein sources such as insects. Insects represent an attractive alternative source of protein due to their economic and ecological advantages. Due to the low methionine content, comparable to soybeans, a lipid- and cholesterol-lowering effect was postulated.

To investigate the hypothesis, a four-week feeding trial was conducted with 12 lean and 36 obese Zucker rats. The lean and one obese group received a diet with casein as reference protein, while two other obese groups had casein substituted with insect meal so that 50% or 100% of the protein source was provided by insect meal. Data on weight development and feed consumption were collected. A microarray was performed in the liver to identify affected metabolic pathways. The results were evaluated with the DAVID Bioinformatics software and validated using qPCR, and gene expressions of fatty acid synthesis, cholesterol synthesis, oxidation, carnitine metabolism, the methionine-homocysteine-glutathione system and the elongation and desaturation of fatty acids were examined. The concentrations of triglycerides, cholesterol, carnitine and homocysteine and its metabolites were measured in plasma and in the liver. A plasma metabolomic analysis was performed. Carnitine was determined in the *Musculus rectus femoris*. Expressions of genes of the metabolic pathways under consideration were measured using PCR. At the protein level, the transcription factors sterol regulatory element-binding protein -1 (SREBP-1) and sterol regulatory element-binding protein -2 (SREBP-2) were investigated using Western blot and the binding activity of peroxisome proliferator activating receptor α (PPAR α) using a Electrophoretic mobility shift assays (EMSA). The activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), fatty acid synthetase (FAS) and 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMGCR) were determined in the liver. Liver samples were processed histologically with an Oil Red O stain.

A clear triglyceride and cholesterol-lowering effect in plasma and in the liver of the test animals could be determined through the use of insect meal as a protein source. Homocysteine concentration was reduced in the plasma and liver in a dose-dependent manner due to the insect meal. Carnitine and acetylcarnitine concentrations were increased in the plasma and in the *Musculus rectus femoris* due to the insect meal. In the liver, carnitine concentrations were unaffected within the obese groups. The concentration of acetylcarnitine was increased by the insect meal in the liver.

The evaluation of the microarray showed reduced gene expression of the biosynthetic processes of sterols, cholesterol and unsaturated fatty acids as well as metabolic processes of long-chain fatty acids in a comparison of the obese insect meal group with 100% insect meal as a protein source versus the obese casein group.

In further investigations of the gene expressions, reduced gene expressions of selected SREBP-1 and SREBP-2-induced genes could be shown using qPCR by using insect meal as a protein source. PPAR α -induced target genes did not show any influence on gene expression by the insect meal. For gene expressions of homocysteine synthesis no influences by the insect meal could be determined. Elongation and desaturation genes were lower expressed by the insect meal.

The protein concentrations of the transcription factors SREBP-1 and SREBP-2 were reduced by the insect meal, whereas SREBP-1 showed no significant differences. PPAR α binding activity, determined by EMSA, showed no activation of PPAR α . The enzyme activities of FAS, G6PD and HMGCR were reduced by the insect meal. The histological sections stained with Oil Red O showed lower lipid levels in the rats whose diet contained insect meal.

The reduced fat and cholesterol levels can be attributed to reduced synthesis, but not to increased PPAR α -mediated oxidation of fatty acids. The cause of the results shown cannot be explained at this time.

Insects offer great potential as food to improve human metabolic health. Insects appear to be a promising alternative source of protein for humans and animals.

9 Literatur

Abbott, B. D. (2009) Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR α), beta (PPAR β), and gamma (PPAR γ) in rodent and human development. *Reproductive Toxicology* 27 (3-4), S. 246–257

Aguilar-Miranda, E.D., Lopez, M.G., Escamilla-Santana, C. und Barba de la Rosa, A.P. (2002) Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 192–195

Alberts, B.; Johnson, A.; Walter, P.; Lewis, J.; Raff, M. und Roberts; K. (2007) *Molecular Biology of the Cell*, 5. Auflage

Alltech (2020) 2020 global feed survey; Alltech, Nicholasville, USA

Anderson, G.H. und Moore, S.E. (2004) Dietary Proteins in the Regulation of Food Intake and Body Weight in Humans. *Journal of Nutrition* 134:974-979

Anderson, J.J. (2001) Soy phytoestrogens, lipid reductions, and atherosclerosis delay in ovariectomized primates. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86:39-40

Anderson, JW, Johnstone, BM & Cook-Newell, ME (1995) Meta-analysis of the effects of soybean protein intake on serum lipids. *New England Journal of Medicine* 333, 276–282.

Anderson, S.J. (2000) Increasing calcium levels in cultured insects. *Zoo Biology* 19:1-9

Ascencio, C.; Torres, N.; Isoard-Acosta, F.; Gómez-Pérez, F.J.; Hernández-Pando, R. und Tovar, A.R. (2004) Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats. *Journal of Nutrition* 134(2):522-529

Baba, N.H., Sawaya, S., Torbay, N. Habbal, Z., Azar, S. und Hashim, S.A. (1999) High protein vs. High carbohydrate hypoenergetic diet for the treatment of obese hyperinsulinemic subjects. *International Journal of Obesity* 23:1202-1206

Badger, T.M.; Ronis, M.J.J.; Wolff, G.; Stanley, S.; Ferguson, M.; Shankar, K. und Jo, C.-H. (2008) Consumption of soy protein isolate reduces hepatosteatosis in obese yellow agouti (A^{vy}) mice, but does not alter the coat color phenotype. *Experimental Biological Medicine* 233:1242-1254

Bakhit, R.M., Klein, B.P., Essex-Sorlie, D., Ham, J.O., Erdman, J.W. und Potter S.M. (1994) Intake of 25 g of Soybean Protein with or without Soybean Fiber Alters Plasma Lipids in Men with Elevated Cholesterol Concentrations. *Journal of Nutrition* 124:213-222

- Banjo, A.D., Lawal, O.A. und Songonuga, E.A. (2006) The nutritonal value of fourteen Species of edible insects in Southwestern Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 5(3):298-301
- Baradaran, A. (2012) Lipoprotein (a) type 2 diabetes and nephropathy the mystery continues. *Journal of Nephropathology* 1:126-129
- Barker, D., Fitzpatrick, M.P. und Dierenfed, E.S. (1998) Nutrient Composition of Seleted Whole Invertebrates. *Zoo Biology* 17:123-134
- Barneveld, R.J. (1999) Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus spp.*) seed to improve livestock production efficiency. *Nutrition Research Review* 12:203-230
- Baum, J.A; Teng, H.; Erdman, J.W.; Weigel, R.M.; Klein, B.P. und Persky, V.W. (1998) Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, postmenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition* 68:545-551
- Bell, C (1999) Development and use of microbiological criteria for foods. IFST, London
- Berger, J. und Moller, D. E. (2002): The Mechanisms of Action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, vol. 53, S. 409–435.
- Bettzieche, A.; Brandsch, C.; Eder, K. und Stangl, G.I. (2009) Lupin protein acts hypocholesterolemic and increases milk fat content in lactating rats by influencing the expression of genes involved in cholesterol homeostasis and triglyceride synthesis. *Molecular Nutrition and Food Research* 2009; 53:1134-1142
- Bettzieche, A.; Brandsch, C.; Weisse, K.; Hirche, F.; Stangl, G.I. und Eder, K. (2008) Lupin protein influences the expression of hepatic genes involved in fatty acid synthesis and triglycerol hydrolysis of adult rats. *British Journal of Nutrition* 99:952-962
- Bisato, I., Marco, M., Rotolo, I., Renna, M., Lussiana, C., Dabbou, S., Capucchio, M.T., Biasibetti, F., Costa, P., Gai, F. (2016) Effect of dietary *Tenebrio molitor* meal inclusion in free-range chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100:1104-1112
- Bodenhemer, F.S. (1951) Insects as Human Food, *Springer Science + Business Media* Dordrecht 1951
- Bosch, G., Zhang, S., Oonincx, D.G.A.B. und Hendriks, W.H. (2013) Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. *Journal of Nutrition Science* 3:29
- Bouchard, P., Bousquet, Y., Davies, A.E., Alonso-Zarazaga, M.A., Lawrence, J.F., Lyal, C.H.F., Newton, A.F., Reid, C.A.M., Schmitt, M., Adam Slipinski, S und Smith, A.B.T. (2011) Family-group names in Coleoptera (Insecta). *ZooKeys* 88:1-972

Bovera, F. Loponte, R.; Marono, S.; Piccolo, G.; Parisi, G.; Iaconisi, V; Gasco, L. und Nizza, A. (2016) Use of larvae meal as protein source in broiler diet: effect on growth performance, nutrient digestibility, and carcass and meat traits. *Journal of Animal Science* 94:639-647

Bovera, F., Piccolo, G., Gasco, L., Marono, S., Loponte, R., Vassalotti, G., Mastellone, V., Lombardi, P., Attia, Y.A. und Nizza, A. (2015) Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*, *L.*) as a possible alternative to soybean meal in broiler diets. *British Poultry Science* Vol.56, No. 5, 569-575

Braissant, O.; Foufelle, F.; Scotto, C.; Dauca, M.; Wahli, W. (1996): Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology* 137:354– 366.

Brandsch, C., Shukla, A., Hirche, F., Stangl, G.I. und Eder, K. (2006) Effect of proteins from beef, pork, and turkey meat on plasma and liver lipids of rats compared with casein and soy protein. *Journal of Nutrition* 22(11-12):1162-1170

Bray, G. A. & York, D. A. (1979) Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiological Review* 59, 719–809

Bray, G.A. und York, D.A. (1972) Dependence of Hypothalamic Obesity on Insulin, the Pituitary and the Adrenal Gland. *Endocrinology* 90:885-894

Brown, A.J.; Sun, L.; Feramisco, J.D.; Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (2002) Cholesterol addition to ER membranes alters conformation of SCAP, the SREBP escort protein that regulates cholesterol metabolism. *Molecular Cell* 10:237-245

Brown, J. D.; Plutzky, J. (2007): Peroxisome Proliferator Activated Receptors as Transcriptional Nodal Points and Therapeutic Targets. *Circulation* 115 (4):518–533

Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (2009) Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *Journal of Lipid Research* 50:15-27

Brown, M.S.; Goldstein, J.L. (1997): the SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 89:331-340

Bukkens, S.G.F. (1997). The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food and Nutrition* 36:287–319.

Buniam, J.; Chukijrunroat, N.; Rattanavichit, Y.; Surapongchai, J.; Weerachayaphorn, J.; Bupha-Intr, T. und Saengsirisuwan, V. (2020) 20-Hydroxyecdysterone ameliorates metabolic and cardiovascular dysfunction in high-fat-high-fructose-fed ovariectomized rats. *BMC Complementary Medicine Therapy* 20:140

Burren, K.A.; Mills, K.; Coop, A.J. und Greene, N.D.E. (2006) Quantitative analysis of s-adenosylmethionine and s-adenosylhomocysteine in neurulation-stage mouse embryos by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 844:112-118

Cani, P.D.; Amar, J.; Iglesias, M.A.; Poggi, M.; Knauf, C.; Bastelica, D.; Neyrinck, A.M.; Fava, F.; Tuohy, K.M. und Chabo, C. (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance; *Diabetes* 56:1761-1772

Caparros Megido, R; Gierts, C; Blecker, C; Brostaux, Y; Haubruge, É; Alabi, T (2016) Consumer acceptance of insect-based alternative meat products in Western countries. *Food Quality Preference* 52:237-243

Carroll, K.K. and Kurowska, E.M. (1995) Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *Journal of Nutrition* 125:594-597

Carroll, KK (1991) Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein. *Journal of American Dietetic Association* 91, 820–827

Chae, J.-H., Kurokawa, K., So, Y.-I., Hwang, H.O., Kim, M.-S., Park, J.-W., Jo, Y.-H., Lee, Y.S. und Lee, B.L. (2012) Purification and characterization of tenecin 4, a new anti-Gram-negative bacterial peptide, from the beetle *Tenebrio molitor*. *Developmental & Comparative Immunology* 36: 540-546

Chiang, J.Y.L. (2013) Bile Acid Metabolism and Signaling. *Comprehensive Physiology* 3(3):1191-1212

Churchward-Venne, Pinckaers PJM, van Loon, JJA, van Loon LJC. Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption. *Nutrition Reviews* 2017; 75: 1035–45.
Cirad (1991). Laboratory Data 1963–1991.

Codex Alimentarius Commission (2007) Food Labelling 5th ed World Health Organization, Rom

Collavo, A., Glew, R.H., Huang, Y.S., Chuang, L.T., Bosse, R. und Paoletti, M.G. (2005) House cricket small-scale farming, Paoletti, M.G. (Ed.) Ecological Implications of Minilivestock: Potential of Insects, Rodents. *Frogs and Snails* 519-544

Collins, S.A. (2014) Antinutritional Factors in Modeling Plant-Based Rainbow Trout, Department of Animal and Poultry Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada, pp. 215

Conconi, J.R.E.; Moreno, J.M.P.; Mayaudon, C.M.; Valdez, F.R.; Perez, M.A.; Prado, E.S. und Rodriguez, H.B. (1984) Protein content of some edible insects in Mexico. *Ethnobiology* 4:61-72

- Contreras, A. V.; Torres, N.; Tovar, A. R. (2013): PPAR- as a Key Nutritional and Environmental Sensor for Metabolic Adaptation. *Advances in Nutrition: An International Review Journal* 4 (4): 439–452
- Cullere, M.; Tasoniero, G. Giaccone, V.; Miotti-Scapin, R.; Claeys, E.; DeSmet, S. und Dalle Zotte, A. (2016) Black soldier fly as dietary protein source for broiler quails: apparent digestibility, excreta microbial load, feed choice, performance, carcass and meat traits. *Animal* 10:1923-1930
- Czermak, P. und Zorn, H. (2013) Biotechnologie von morgen DECHEMA-Fachgruppe „Lebensmittelbiotechnologie“. *BIOspektrum* 19 5.13: 572-573
- DeArtiñano, A.A. und Castro, M.M. (2009) Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition* 102(9):1246-1253
- DeFoliart, G.R. (1999) Insects as Food: Why the Western Attitude is Important. *Annual Review Entomology* 44:21-50
- Delbecque, J.P.; Delachambre, J.; Hirn, M. und De Reggi, M. (1978) Abdominal production of ecdysterone and pupal-adult development in *Tenebrio molitor* (Insect, Coleoptera). *General and Comparative Endocrinology* 35: 436-444
- Desvergne, B.; Wahli, W. (1999): Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Nuclear Control of Metabolism. *Endocrine Reviews* 20(5):649–688.
- Dinan, L. (2001) Phytosteroids: Biological aspects. *Phytochemistry* 57:325-339
- domesticus (Orthoptera, Gryllidae) as a novelty food, and comparison of food conversion efficiency with values reported for livestock. *Journal of Economic Entomology*, 84, 891–896.
- Duncan, E.A.; Brown, M.S.; Goldstein, J.L. und Sakai, J. (1997) Cleavage site for sterol-regulated protease localized to Leu-Ser bond in the luminal loop of sterol regulatory element-binding protein-2. *Journal of Biological Chemistry* 272(19):12778-12785
- Eder, K. und Ringseis, R. (2010) The role of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in transcriptional regulation of novel organic cation transporters. *European Journal of Pharmacology* 628:1-5
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A., El-Mowafi, A. (2006) Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fishmeal? *Aquaculture* 255:255–262.
- Espenshade, P.J.; Li, W.P. und Yabe, D. (2002) Sterols block binding of COPII proteins to SCAP, thereby controlling SCAP sorting in ER. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 99:11694-11699

Evans, R. M.; Barish, G. D.; Wang, Y. X. (2004): PPARs and the complex journey to obesity. *Nature Medicine* 10 (4):355–361

Evans, S.J.; Wallace, C. und Dobrowolski, N. (1993) Interaction of soil type and temperature on the survival of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*. *Soil Biological Biochemistry* 25:1153-1160

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014) The state of the world fisheries and aquaculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2009. The State of Food and Agriculture: Livestock in the Balance; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011. World Livestock 2011 – Livestock in Food Security; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations Contaminacion de plagas post-cosecha, 1998

Fernandes, J.C.; Sereno, J.; Garrido, P.; Parada, B.; Cunha, M.F.; Reis, F.; Pintado, M.E. und Santos-Silva, A. (2012) Inhibition of bladder tumor growth by chitoooligosaccharides in an experimental carcinogenesis model. *Marine Drugs* 10:2661-2675

Ferré, P. (2004): The Biology of Peroxisome Proliferator–Activated Receptors. Relationship with Lipid Metabolism and Insulin Sensitivity. *Diabetes* 53:43- 50

Finke, M.D. (2002) Complete Nutrient Composition of Commercially Raised Invertebrates Used as Food for Insectivores. *Zoo Biology* 21:269-285

Finke, M.D. (2007) Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biology*. 26: 105–115

Finke, M.D., DeFoliart, G.R. und Benevenga, N.J. (1989) Use of a Four-Parameter Logistic Model to Evaluate the Quality of the Protein from Three Insect Species when Fed to Rats. *Journal of Nutrition*

Foley, J.A., Ramankutty, N., Baumann, K.A., Cassidy, E.S., Gerber, J.S., Johnston, M., Müller, N.D., O’Connell, C., Ray, D.K., West, P.C., Balzer, C., Bennett, E.M., Carpenter, S.R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D. und Zaks, D.P.M. (2011) Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478:337-342

Forman, B. M.; Chen, J.; Evans, R. M. (1997): Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors α and δ .

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
94(9):4312–4317

Foucault, A.S.; Even, P.; Lafont, R.; Dioh, W.; Veillet, S.; Tomé, D.; Huneau, J.F.; Hermier, D. und Quignard-Boulangé, A. (2014) Quinoa extract enriched in 20—hydroxyecdysterone affects energy homeostasis and intestinal fat absorption in mice fed a high-fat diet. *Physiological Behaviour* 128:226-231

Francis, G., Makkar, H.P.S. und Becker, K. (2001) Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feeding ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199:197-227

Franklin, M.P., Sathyanarayan, A. und Mashek, D.G. (2017) Acyl-CoA Thioesterase 1 (ACOT1) Regulates PPAR α to Couple Fatty Acid Flux with Oxidative Capacity During Fasting. *Diabetes* 66(8):2112-2123

Furda, I. (1983) Aminopolysaccharides – their potential as dietary fiber; Unconventional Sources of Dietary Fiber (Furda, I. ed.) *ACS Symposium Series* 214:105-122

Gallaher, C.M.; Munion, J.; Hesslink, R.; Wise, J. und Gallaher, D.D. (2000) Cholesterol Reduction by Glucomannan and Chitosan Is Mediated by Changes in Cholesterol Absorption and Bile Acid and Fat Excretion in Rats. *Journal of Nutrition*

Gallaher, D.D. und Franz, P.M. (1990) Effect of diet on bile acid metabolism in the rat: corn oil and brans of wheat. *Journal of Nutrition* 120:1320-1330

Garg, L.; Sebkova, E.; Thomson, A.B.R. und Clandinin, M.T. (1988) $\Delta 6$ Desaturase activity in liver microsomes of rats feed diets enriched with cholesterol and/or $\omega 3$ fatty acids. *Biochemistry* 249:351-356

Gasco, L., Belforti, M., Rotolo, L., Lussiana, C., Parisi, G., Terova, G., Roncarodi, A. und Gai, F. (2014a) Mealworm (*Tenebrio molitor*) as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: Abstarct book Conference *Insects to feed the world*

Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Lussiana, C., Antonopoulou, E., Mola, P. und CHatzifotis, S. (2016) *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: growth performance, whole body composition and *in vivo* apparent digestibility. *Animal Feed Science and Technology* 220:35-45

Gastaldelli, A., Kozakova, M., Højlund, K., Flyvbjerg, A., Favuzzi, A., Mitrakou, A. und Balkau, B. (2009) Fatty liver is associated with insulin resistance, risk of coronary heart disease, and early atherosclerosis in a large European population. *Hepatology* 49(5)

Gatlin, D.M., Ft, B., Brown, P., Dabrowaki, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G.S., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J.,

Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38:551–579

Gerber, P.J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A. und Tempio, G. (2013) Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*

Gessner, D.K.; Schwarz, A.; Meyer, S.; Wen, G.; Most, E.; Zorn, H.; Ringseis, R. und Eder, K. (2019) Insect Meal as Alternative Protein Source Exerts Pronounced Lipid-Lowering Effects in Hyperlipidemic Obese Zucker Rats. *Journal of Nutrition*

Ghaly, A.E. und Alkoaik, F.N. (2009) The yellow mealworm as a novel source of protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 4(4):319-331

Giannone, M., 2003. A natural supplement made of insect larvae. *Rivista di Avicoltura* 72 (38), 40–41

Gilbert, L.L.; Bollenbacher, W.E.; Goodman, W.; Smith, S.L.; Agui, N., Granger, N. und Sedlak, B.J. (1980) Hormones controlling insect metamorphosis. *Recent Progress in Hormone Research* 36:401-449

Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M., Toulmin, C. (2010) Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* 327: 812-818

Goodridge, A.G. (1987) Dietary regulation of Gene Expression Enzymes Involved in Carbohydrate and Lipid Metabolism. *Annual Review of Nutrition* 7:157-185

Goodridge, A.G. (1987) Dietary Regulation of Gene Expression: Enzymes Involved in Carbohydrate and Lipid Metabolism. *Annual Review of Nutrition* 7:157-185

Gottlicher, M.; Widmark, E.; Li, Q.; Gustafsson J. A. (1992): Fatty acids activate a chimera of the clofibrilic acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89:4653–4657

Grau, T.; Vilcinskis, A. und Joop, G. (2017) Sustainable farming of the mealworm *Tribolium molitor* for production for the production of food and feed. *Z. Naturforsch.* 72(9-10):337-349

Grygiel-Górniak, B. (2014) Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review. *Nutrition Journal* 13:17

Gudbrandsen, O.A.; Werdedahl, H.; Mork, S.; Liaset, B.; Espe, M. und Berge, R.K. (2006) Dietary soy protein concentrate enriched with isoflavones reduced fatty liver, increased

hepatic fatty acid oxidation and decreased the hepatic mRNA level of VLDL receptor in obese Zucker rats. *British Journal of Nutrition* 96:249-257

Gueguen J., Cerletti P. (1994) Proteins of some legume seeds: soybean, pea, fababean and lupin. In: Hudson B.J.F. (eds) *New and Developing Sources of Food Proteins*. Springer, Boston, MA

Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U. und Emanuelsson, A. (2013) The methodology of the FAO study: „Global Food Losses and Food Waste – extent, cause and prevention“ *United Nations Food and Agriculture Organization* (FAO)

Hara, A. und Radin, N.S. (1978) Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry* 90:420-426

Häusling, M. (2010) DRAFT REPORT on the EU protein deficit: what solution for a long-standing problem? (2010/2011), Committee on Agriculture and Rural Development

Hennekens, C.H. und Gaziano, J.M (1993) Antioxidants and heart disease: Epidemiology and clinical evidence. *Clinical Cardiology* 16:110-113

Herberg, L. und Coleman, D. L. (1977) Laboratory animals exhibiting obesity and diabetes syndromes. *Metabolism* 26:59–99

Hillgartner, F.B., Salati, L.M. und Goodridge, A.G. (1995) Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. *Physiological Reviews* 75:47-76

Hillgartner, F.B., Salti, L.M. und Goodridge, A.G. (1995) Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. *Physiological Reviews* 75:47-76

Hirche, F.; Fischer, M.; Keller, J. und Eder, K. (2009) Determination of carnitine, its short chain acyl esters and metabolic precursors trimethyllysine and gamma-butyrobetaine by quasisolid phase extraction and MS/MS detection. *Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science* 877:2158-2162

Hirche, F.; Schröder, A.; Knoth, B.; Stangl, G.I. und Eder, K. (2006a) Effect of dietary methionine on plasma and liver cholesterol concentrations in rats and expression of hepatic genes involved in cholesterol metabolism. *British Journal of Nutrition* 95:879-888

Hirche, F.; Schröder, A.; Knoth, B.; Stangl, G.I. und Eder, K. (2006b) Methionine-induced elevation of plasma homocysteine concentration is associated with increase of plasma cholesterol in adult rats. *Annals of Nutrition and Metabolism* 50:139-146

Hornung, B. (1991) Die Bedeutung der Larven des Mehlkäfers (*Tenebrio molitor* L.) als Überträger von Zearlenon in der Fütterung von insektivoren Vögeln und Heimtieren

Horton, J. D.; Goldstein, J.L.; Brown, M.S. (2002): SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *Journal of Clinical Investigation* 109 (9):1125-1131

Horton, J.D. und Shimomura, I. (1999) Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis. *Current Opinion in Lipidology* 10(2):143-150

House, J (2016) Consumer acceptance of insect-based foods in the Netherlands: academic and commercial implications. *Appetite* 107:47-58

Hsieh, Y.L., Yaq, H.-T., Cheng, R.-S. und Chiang, M.-T. (2012) Chitosan Reduces Plasma Adipocytokines and Lipid Accumulation in Liver and Adipose Tissue and Ameliorates Insulin Resistance in Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food* 15(5):453-460

Hua, X.; Yokoyama, C.; Wu, J.; Briggs, M.R.; Brown, M.S.; Goldstein, J.L.; Wang, X. (1993): SREBP-2, a second basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that stimulates transcription by binding to a sterol regulatory element. *Proceedings National Academie of Science USA* 90 (24):11603-11607

Huang, D.W.; Sherman, B.T. und Lempicki, R.A. (2008) Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols* Vol. 4 No. 1

Ionescu, E.; Sauter, J.F. und Jeanrenaud, B. (1985) Abnormal oral glucose tolerance in genetically obese (fa/fa) rats. *Endocrinology and Metabolism* 248:500-506

Iritani, N, Hosomi, H, Fukuda, H, Tada, K & Ikeda, H (1996) Soybean protein suppresses hepatic lipogenic enzyme gene expression in Wistar fatty rats. *Journal of Nutrition* 126, 380–388

Issemann, I.; Green, S. (1990): Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347(6294):645–650

Itagaki, H.; Shimizu, K.; Morikawa, S.; Ogawa, K. und Ezaki, T. (2013) Morphological and functional characterization of non-alcoholic fatty liver disease induced by a methionine-choline-deficient diet in C57BL/6 mice. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology* 6(12): 2683-2696

Jackowski, S.; Cronan, J.E. und Rock, C.O. (1991) Lipid metabolism in procaryotes; *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*; Elsevier S. 80-81

Ji, Y.J.; Lui, H.N.; Kong, X.F.; Blachier, F.; Geng, M.M.; Liu, Y.Y. und Yin, Y.L. (2016) Use of insect powder as a source of dietary protein in early-weaned piglets. *Journal of Animal Sciences* 94:111-116

- Johnston, P.R., Makarova, O. und Rolff, J. (2014) Inducible Defenses Stay Up Late: Temporal Patterns of Immune Gene Expression in *Tenebrio molitor*. *Genes, Genomes, Genetics* 4(6):947-955
- Jones, L.D., Cooper, R.W., Harding, R.S., 1972. Composition of mealworm *Tenebrio molitor* larvae. *Journal of Zoo Animal Medicine* 3 (4):34–41
- Jongema, Y. (2015) List of Edible Insects https://www.wur.nl/upload_mm/7/4/1/ca8baa25-b035-4bd2-9fdc-a7df1405519a_WORLD%20LIST%20EDIBLE%20INSECTS_%202015.pdf
- Jongema, Y. (2017) World list of Edible Insects. *Wageningen University & Research*
- Ju, C.; Yue, W.; Yang, Z.; Zhang, Q.; Yang, X.; Liu, Z. und Zhang, F. (2010) Antidiabetic effect and mechanism of chitooligosaccharides. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 33:1511-1516
- Katagiri, Y.; Ibrahim, R.K. und Tahara, S. HPLC analysis of white lupin isoflavonoids. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 64(6):1118-1125
- Kava, R.; Greenwood, M.R.C. und Johnson, P.R. (1990). "Zucker (fa/fa) Rat". *ILAR Journal Institute for Laboratory Animal Research* 32 (3): 4–8
- Kayashita, J., Shimaoka, I., Nakajoh, M., Yamazaki, M. und Koto, N. (1997) Consumption of Buckwheat Protein lowers Plasma Cholesterol and Raises Fecal Neutral Sterols in Cholesterol-Fed Rats Because of its Low Digestibility. *Journal of Nutrition* 127(7):1395-1400
- Kersten, S.; Desvergne, B.; Wahli, W. (2000): Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 405(6785):421–424
- Kharabanda, K.K.; Mailliard, M.E.; Baldwin, C.R.; Beckenhauer, H.C.; Sorrell, M.F. und Tuma, D.J. (1995) Betaine attenuates alcoholic steatosis by restoring phosphatidylcholine generation via the phosphatidylethanolamine methyltransferase pathway. *Journal of Hepatology* 46(2): 314-321
- Kharabanda, K.K., Mailliard, M.E., Baldwin, C.R., Beckenhauer, H.C., Sorrell, M.F. und Tuma, D.J. (2007) Betaine attenuates alcoholic steatosis by restoring phosphatidylcholine generation via the phosphatidylethanolamine methyltransferase pathway. *Journal of Hepatology* 46(2):314-321
- Khurso, M., Andrew, N.R. und Nicholas, A. (2012) Insects as poultry feed: a scoping study for poultry production systems in Australia. *World's Poultry Science Journal* 68: 435–446
- Kim, J.N.; Chang, I.Y.; Kim, H.I. und Yoon, S.P. (2009) Long-term effects of chitosan oligosaccharide in streptozotocin-induced diabetic rats. *Islets* 1:111-116

Kim, S.H.; Lim, Y.; Park, J.B.; Kwak, J.H.; Kim, K.J.; Kim, J.H.; Song, H.; Cho, J.Y.; Hwang, D.Y., Kim, K.S. und Jung, Y.S. (2017) Comparative study of fatty liver induced by methionine and choline-deficiency in C57BL/6N mice originating from three different sources. *Laboratory Animal Research* 33:157-164

Kizelsztejn, P.; Govorko, D.; Komarnytsky, S.; Evans, A.; Wang, Z.; Cefalu, W.T. und Raskin, I. (2009) 20-Hydroxyecdysterone decrease weight and hyperglycemia in a diet-induced obesity mice model. *American Journal of Physiological Endocrinology Metabolism* 296:433-439

Klassing, K.C., Thacker, P., Lopez, M.A. und Calvert, C.C. (2000) Increasing the Calcium content of meal worms (*Tenebrio molitor*) to improve their nutritional value for bone mineralization of growing chicks. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 31(4):512-517

Kliwer, S. A.; Sundseth, S. S.; Jones, S. A.; Brown, P. J.; Wisely, G. B.; Koble, C. S. et al. (1997): Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors α and γ . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(9):4318–4323

Koba, K, Liu, JW, Bobik, E Jr, Mills, DE, Sugano, M & Huang, YS (2003) Effect of phytate in soy protein on the serum and liver cholesterol levels and fatty acid profile in rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 67, 15–22

Kota, B.P., Huang, T.H.W. und Roufogalis, B.D. (2005) An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research* 15:85-94

Kotopoulos, D.; Dalais, F.S.; Liang, Y.L.; McGrath, B.P. und Teede, H.J. (2000) The effect of soy protein containing phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women. *Climacteric* 3:161-167

Kritchevsky, D.; Tepper, S.A.; Czarnecki, S.K. und Kurfeld, D.M. (1982) Atherogenicity of animal and vegetable protein. Influence of the lysin to arginine ratio. *Atherosclerosis* 41:429-431

Lassaletta, L.; Estellés, F.; Beusen, A.H.W.; Bouwman, L.; Calvet, S.; Van Grinsven, H.J.M.; Doelman, J.C.; Stehfest, E.; Uwizeye, A. und Westhoek, H. (2019) Future global pig production systems according to the shared socioeconomic pathways. *Science of the Total Environment* 665:739-751

Latruffe, N. und Vamecq, J. (1997) Peroxisome proliferators and peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) as regulators of lipid metabolism. 81-94

Latruffe, N.; Malki, M.C., Nicolas-Frances, V.; Clemencet, M.-C., Jannin, B. und Berlot, J.-P. (2000): Regulation of the peroxisomal β -oxidation-dependent pathway by peroxisome proliferator-activated receptor α and kinases. *Biochemical Pharmacology* 60:1027-1032

- Lehmann, J. M.; Lenhard, J. M.; Oliver, B.B; Ringold, G. M.; Kliewer, S. A. (1997): Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal antiinflammatory drugs. *Journal of Biological Chemistry* 272:3406–3410
- LeHoux, J.-G. und Grondin, F. (1993) Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology* 132:1078-1084
- Leppla, N.C. (2008) Rearing of Insects. *Encyclopedia of Entomology* 2008, Springer
- Li, L., Xie, B., Dong, C., Hu, D., Wang, M., Liu, G. und Liu, H. (2015) Rearing *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) in the „Lunar Palace 1“ during a 105-day multi-crew closed integrative BLSS experiment. *Life Science in Space Research* 7:9-14
- Li, L., Zhao, Z. und Liu, H. (2011) Feasibility of feeding yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.) in bioregenerative life support systems as a source of animal protein for humans. *Acta Astronautica* 92:103-109
- Li, Z.; Agellon, L.B.; Allen, T.M.; Umeda, M.; Jewell, L.; Mason, A. und Vance, D.E. (2006) The ratio of phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine influences membrane integrity and steatohepatitis. *Cell Metabolism* 3, 321
- Lindholm, M. und Eklund, A. (1991) The effect of dietary protein on the fatty acid composition and $\Delta 6$ desaturase activity of rat hepatic microsomen. *Lipids* 26(2):107-110
- Liu, L.-N. und Wang, C.-Y. (2014) Complete mitochondrial genom of yellow meal worm (*Tenebrio molitor*). *Zoological Research* 35 (6):537-545
- Lovati, M.R.; Manzoni, C.; Gianazza, E.; Arnoldi, A.; Kurowska, E.; Carroll, K.K. und Sitori, C.R. (2000) Soy protein peptides regulate cholesterol homeostasis in HepG2 cells. *Jornal of Nutrition* 130:2543-2549
- Lutz, T.A. und Woods, S.C. (2012) Overview of Animal Models of Obesity. *Current Protocols in Pharmacology*, 58: 5.61.1-5.61.18
- Lyon, W. F. Yellow and dark mealworms; Entomology, Ohio State University Extension, 1991
- MacEvilly, C. (2000) Bugs in the system. *Nutrition Bulletin* 25, 267-268
- Maceyka, M. und Spiegel, S. (2014) Sphingolipid metabolites in inflammatory disease, *Nature* 510:58-67
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuze, V. und Aankers, P. (2014) State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 197: 1–33

- Mandani, S., Lopez, S., Blond, J.P., Prost, J. und Belleville, J. (1998) Highly Purified Soybean Protein Is Not Hypocholesterolemic in Rats but Stimulates Cholesterol Synthesis and Excretion and Reduces Polyunsaturated Fatty Acid Biosynthesis. *Journal of Nutrition* 128(7):1084-1091
- Manzano-Agugliaro, F., Sanchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S. und Pérez-Banón, C. (2011) Insects for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16:3744-3753
- Marchesi, M.; Parolini, C.; Diani, E.; Rigamonti, E.; Cornelli, L.; Arnoldi, A.; Sitori, C.R. und Chiesa, G. (2008) Hypolipidaemic and anti-atherosclerotic effects of lupin proteins in a rabbit model. *British Journal of Nutrition* 100:707-710
- Marschall, M.J.M., Ringseis, R., Gessner, D.K.; Grundmann, S.M., Most, E., Wen, G., Maheshwari, G., Zorn, H. und Eder, K. (2021) Effect of Ecdysterone on the Hepatic Transcriptome and Lipid Metabolism in Lean and Obese Zucker Rats. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 5241
- Martin, R.D., Rivers, J.P.W., Cowgill, U.M., 1976. Culturing mealworms as food for animals in captivity. *International Zoo Yearbook* 16 (1):63–70
- Martinez-Uña, M.; Varela-Rey, M.; Cano, A.; Fernández-Ares, L.; Beraza, N.; Aurrekoetxea, I.; Martinez-Arranz, I.; Garcia-Rodrigues, J.L.; Buqué, X.; Mestre, D.; Luka, Z.; Wagner, C.; Alonso, C.; Finnell, R.H.; Lu, S.C.; Martinez-Chantar, M.L.; Aspichueta, P. und Mato, J.M. (2013) Excess S-adenosylmethionine reroutes phosphatidylethanolamine towards phosphatidylcholine and triglyceride synthesis. *Hepatology* 58(4): 1296-1305
- Martins, J.M.; Riottot, M.; de Abreu, M.C.; Viegas-Crespo, A.M.; Lanca, M.J.; Almeida, J.A.; Freire, J.B. und Bento, O.P. (2000) Cholesterol-lowering effect of dietary blue lupin (*Lupinus angustifolius L.*) in intact and ileorectal anastomosed pigs. *Journal of Lipid Research* 46(7):1539-1547
- McNamara, D.J., Davidson, N.O., Samuel, P. und Ahrens, E.H. (1980) Cholesterol absorption in man: effect of administration of clofibrate an/or Cholestyramine. *Journal of Lipid Research* 21(8):1058-1064
- Mekonnen, M.M und Hoekstra, A.Y. (2012) A Global Assessment of the Water Footprint of Farm Animal Products. *Ecosystems* 15:401-415
- Merrifield, D.L.; Olsen, R.E.; Myklebust, R.; Ringo, E. und El-Shemy, H. (2011) Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish, El-Shemy (Ed.), Soybean and Nutrition.
- Meyer, S.; Gessner, D.K.; Braune, M.S.; Frieshoff, T.; Moat, E.; Höring, M.; Liebisch, G.; Zorn, H.; Eder, K. und Ringseis, R. (2020b) Comprehensive evaluation of the metabolic effects

of insect meal from *Tenebrio molitor L.* in growing pigs by transcriptomics, metabolomics and lipidomics. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 11:20

Meyer, S.; Gessner, D.K.; Maheshwari, G.; Röhrig, J.; Friedhoff, T.; Most, E.; Zorn, H.; Ringseis, R. und Eder, K. (2020c) *Tenebrio molitor* Larvae Meal Affects the Cecal Microbiota of Growing Pigs. *Animals* 10, 1151

Meyer, S.; Gessner, D.K.; Wen, G.; Most, E.; Liebisch, G.; Zorn, H.; Ringseis, R. und Eder, K. (2019) The Antisteatotic and Hypolipidemic Effect of Insect Meal in Obese Zucker Rats is Accompanied by Profound Changes in Hepatic Phospholipid and 1-Carbon Metabolism. *Molecular Nutrition and Food Research* 1801305

Meyer, S.; Schäfer, L.; Röhrig, J.; Maheshwari, G.; Most, E.; Zorn, H.; Ringseis, R.; Eder, K. und Gessner, D.K. (2020a) Supplementation of Sulfur-Containing Amino Acids or Essential Amino Acids Does Not Reverse the Hepatic Lipid-Lowering Effect of an Protein-Rich Insect Meal in Obese Zucker Rats. *Nutrients* 12:987

Mezei, O.; Banz, W.; Steger, R.; Peluso, M.; Winters, T. und Shay, N. (2003): Soy Isoflavones Exert Antidiabetic and Hypolipidemic Effects through the PPAR Pathways in Obese Zucker Rats and Murine RAW 264.7 Cells. *Journal of Nutrition*

Mezei, O.; Li, Y.; Mullen, E.; Ross-Viola, J.S. und Shay, N.F. (2006) Dietary isoflavone supplementation modulates lipid metabolism via PPAR alpha-dependent and independent mechanism. *Physiological Genomics* 26: 8-14

Moon, M.-S., Lie, M.-S., Kim, C.-T. und Kim, Y. (2007) Dietary chitosan enhances hepatic CYP7A1 activity and reduces plasma and liver cholesterol concentrations in diet-reduced hypercholesterolemia in rats. *Nutritional Research and Practice* 1(3):175-179

Morita, T.; Oh-Hash, A.; Takei, K.; Ikai, M.; Ksaoka, S. und Kiriyama, S. (1996) Cholesterol-lowering effects of soybean, potatoe and rice proteins depend on their low methionine content in rat fed a cholesterol-free purified diet. *Journal of Nutrition* 127:470-477

Mullen, E. Brwon, R.M.; Osborne, T.F. und Shay, N.F. (2004) Soy isoflavones affect sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) and SREBP-regulated genes in HepG2 cells. *Journal of Nutrition* 134:2942-2947

Murata, M., Sano, Y., Ishihara, K. und Uchida, M. (2002) Dietary Fish Oil and *Undaria pinnatifida* (Wakame) synergistically Decrease Rat Serum and Liver Triacylglycerol. *Journal of Nutrition* 132(4):742-747

Muzzarelli, R.A.A. (1983) Chitin and ist derivates: New trends of applied research. *Carbohydrate Polymers* 3(1):53-75

Nagasawa, A.; Fukui, K.; Kojima, M.; Kishida, K.; Nagaretani, H.; Hibuse, T.; Nishizawa, H.; Kihara, S.; Waki, M.; Takamatsu, K.; Funahashi, T. und Matsuzawa, Y. (2003) Divergent effects of soy protein diet on the expression of adipocytokines. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 311(4):909-914

Nakagaki, B. J., und DeFoliart, G. R. (1991). Comparison of diets for mass-rearing Acheta Nakamura, M.T., Yudell, B.E. und Loor, J.J. (2014) Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research* 53:124-144

Naresh Kumar, R.; Sundaram, R.; Shanthi, P. und Sachdanandam, P. (2013) Protective role of 20-OH ecdysterone on lipid profile and tissue fatty acid changes in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology* 698:489-498

National Research Council (1995) Nutrient Requirement of Laboratory Animals 4th revised ed. *National academy Press Washington D.C.*

Nepokoeff, C.M.; Lakshmanan, M.R. und Potter, J.W. (1975) Fatty acid synthase from rat liver. *Methods in Enzymology* 39: 37-44

Newton, G.L., Booram, C.V., Barker, R.W. und Hale, O.M. (1977) Dried Hermetia illucens Larvae Meal as a Supplement for Swine. *Journal of Animal Science* 44: 395-400

Ng, W.-K., Liew, F.-L., Ang, L.-P. und Wong, K.-W. (2001) Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Research* 32:273-280

Niebergall, L.J.; Jacobs, R.L.; Chaba, T. und Vance, D.E. (2011) Phosphatidylcholine protects against steatosis in mice but not non-alcoholic steatohepatitis. *Biochimica and Biophysica Acta* 1811, 1177

Niu, J.; Lin, H.Z.; Jiang, S.G.; Chen, X.; Wu, K.C.; Liu, Y.J.; Wang, S. und Tian, L.X. (2013) Comparison of effect of chitin, chitosan, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-D-glucosamine on growth performance, antioxidant defenses and oxidative stress status of *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 372:1-8

Nohtrufft, A.; Yabe, D.; Goldstein, J.L.; Brown, M.S. und Espenshade, P.J. (2000) Regulated step in cholesterol feedback localized to budding of SCAP from ER membranes. *Cell* 102:315-323

Nohtrufft, A.; Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (1998) Sterols regulate processing of carbohydrate chains of wild-type SREBP cleavage-activating protein (SCAP), but not sterol-resistant mutants Y298C or D443N. *Proceedings of the National. Academie of Science USA* 95(22):12848-12853

- Nolin, T.D.; McMenamin, M.E. und Himmelfarb, J. (2007) Simultaneous determination of total homocysteine, cysteine, cysteinylglycine, and glutathione in human plasma by high-performance liquid chromatography: application to studies of oxidative stress. *Journal of Chromatography Analytical Technology Biomedical Life Science* 852:554-561
- Novikov, V.Y. (1996) Kinetics of formation of D(+)-glucosamine by acid hydrolysis of chitin. *Russian Journal of Applied Chemistry* 72:156-161
- Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D. und Charronfiere, U.R. (2014) Review of food composition data for edible insects. *Food Chemistry* 193:39-46
- Ogunji, J.O. (2004) Alternative protein sources in diets for farmed tilapia. *Nutritional Abstracts and Reviews Series B*. 74:23-32
- Oonincx, D.G.A. B., Van Itterbeeck, J.; Heetkamp, M. J.W., Van den Brand, H., van Loon, J. J.A. und Van Huis, A. (2010). An exploration on greenhouse gas and ammonia
- Oonincx, D.G.A.B. und De Boer, I.J.M. (2012) Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans- A Life Cycle Assessment. *PLoS ONE* 7(12): e51145
- Orentreich, N.; Matias, J.R.; DeFelice, A. und Zimmerman, J.A. (1993) Low methionine ingestion by rats extends life span. *Journal of Nutrition* 123:269-274
- Osada, K., Inoue, T., Nakamura, S. und Sugano, M. (1999) Dietary soybean protein moderates the deleterious disturbance of lipid metabolism caused by exogenous oxidized cholesterol in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects* 1427(3):337-350
- Parr, M.K.; Zhao, P.; Haupt, O.; Ngueu, S.T.; Hengevoss, J.; Fritzemeier, K.H.; Piechotta, M.; Schlörer, N.; Muhn, P.; Zheng, W.Y. et al. (2014) Estrogen receptor beta is involved in skeletal muscle hypertrophy induced by the phytoecdysteroid ecdysterone. *Molecular Nutrition & Food Research* 58:1861-1872
- Payne, CL; Scarborough, P; Rayner, M; Nonaka, K (2016) Are edible insects more or less „healthy“ than commonly consumed meats? A comparison using two nutrient profiling models developed to combat over- and undernutrition. *European Journal of Clinical Nutrition* 70:285-291
- Peraza, M.A., Burdick, A.D., Marin, H.E., Gonzales, F.J., Peters, J.M. (2006) The Toxicology of Ligands for Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR). *Toxicological Sciences* 90: 269-295
- Perrone, C.E.; Mattocks, D.A.; Jarvis-Morar, M.; Plummer, J.D. und Orentreich, N. (2010) Methionine restriction effects on mitochondrial biogenesis and aerobic capacity in white adipose tissue, liver, and skeletal muscle of F344 rats. *Metabolism* 59:1000-1011

- Piccolo, G., Marono, S., Gasco, L., Iannaccone, F., Bovera, F., Nizza, A. (2014) Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles. Abstract Book Conference Insects to Feed The World, p. 76
- Pimental, D., Dritschilo, W., Krummel, J., und Kutzman, J. (1975) Energy and land constraints in food protein production. *Science* 190:754-761
- Plantinga, E.A., Bosch, G. und Hendriks, W.H. (2011) Estimation of the dietary nutrient profile of free-roaming feral cats: possible implications for nutrition of domestic cats. *British Journal of Nutrition* 106:35-S48
- Potter, S.M., Baum, J.A., Teng, H., Stillman, R.J., Shay, N.F. and Erdman, J.W. (1998) Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition* 68:1375-1279
- Premalatha, M., Abbasi, T. und Abbasi, S.A. (2011) Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: The use of edible insects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15:4357-4360
- Radharkishnan, A.; Sun, L.-P.; Espenshade, P.J.; Goldstein, J.L. und Brown, M.S. (2010) The SREBP pathway: Gene Regulation through Sterol Sensing and Gated Protein Trafficking in Handbook of Cell Signaling (Second Edition) S. 2505-2510
- Rakhshandehroo, M.; Knoch, B.; Müller, M.; Kersten, S. (2010): Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha Target Genes. *PPAR Research* 5:1-20.
- Ramos-Elorduy, J. (2006) Threatened edible insects in Hidalgo, Mexico and some measures to preserve them. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2: 1-10
- Ramos-Elorduy, J., Avila Gonzalez, E., Rocha Hernandez, A. und Pino, J.M. (2002) Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of Economy and Entomology*, 95: 214-220
- Rana, K., Siriwardena, S. und Hasan, M. (2009) Impact of Rising Feed Ingredient Prices on Aquafeeds and Aquaculture Production. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* 541
- Rawson, R.B.; Zelenski, N.G.; Nijhawan, D.; Ye, J.; Sakai, J.; Hasan, M.T.; Chang, T.Y.; Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (1997) Complementation cloning of S2P, a gene encoding a putative metalloprotease required for intramembrane cleavage of SREBPs. *Molecular Cell* 1(1):47-57
- Razdan, A. und Pettersson, D. (1996) Hypolipidaemic, gastrointestinal and related responses of broiler chickens to chitosans of different viscosity. *British Journal of Nutrition* 76:387-397
- Rees, D. A. & Alcolado, J. C. (2005) Animal models of diabetes mellitus. *Diabetes Med.* 22, 359-370

- Rempe, C. (2014) Hui oder Pfui: Insekten in der menschlichen Ernährung
Richie, J.P.Jr.; Leutzinger, Y.; Parthasarathy, S.; Malloy, V.; Orentreich, N. und Zimmerman, J.A. (1994) Methionine restriction increases blood glutathione and longevity in F344 rats. *FASEB Journal* 8:1302-1307
- Ricketts, M.-L.; Moore, D.D.; Banz, W.J.; Mezei, O. und Shay, N.F. (2005) Molecular mechanisms of action of the soy isoflavones includes activation of promiscuous nuclear receptors. A review. *Journal of Nutritional Biochemistry* 16:321-330
- Rosell, M.S.; Appleby, P.N.; Spencer, E.A. und Key, T.J. (2004) Soy intake and blood cholesterol concentrations: a cross-sectional study of 1033 pre- and postmenopausal women in the Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 80:1391-1396
- Rosen, E.D.; Sarraf, P.; Troy, A.E.; Bradwin, G.; Moore, K.; Milstone, D.S.; Spiegelman, B.M. und Mortensen, R.M. (1999) PPAR is required for the differentiation of adipose tissue *in vivo*. *Molecular Cell* 4:611-617
- Rumbold, B.A. und Schlüter, O.K. (2012) Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovation Food Science and Emerging Technologies* 17:1-11
- Rumbold, B.A. und Schlüter, O.K. (2015) Insect-based protein sources and their potential for human consumption: Nutritional composition and processing. *Animal Frontiers*
- Rumbold, B.A., Fröhlich, A., Reineke, K., Knorr, D., Boguslawski, S., Ehlbeck, J. und Schlüter, O. (2014) Comparison of volumetric and surface decontamination techniques for innovative processing of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 26:232-241
- Sakai, J., Duncan, E.A., Rawson, R.B., Hua, X., Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (1996) Sterol-Regulated Release of SREBP-2 from Cell Membrane Requires Two Sequential Cleavages One Within a Transmembrane Segment. *Cell* 85:1037-1046
- Sakai, J., Duncan, E.A., Rawson, R.B., Hua, X., Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (1996) Sterol-regulated Release of SREBP-2 from Cell Membranes Requires Two Sequential Cleavages one within a Transmembran Segment. *Cell* 85:1037-1046
- Salter, A.M. (2019) Insect Protein: A Sustainable and Healthy Alternative to Animal Protein. *Journal of Nutrition* 2019
- Sánchez-Muros, M.-J, Barroso, F.G. und Manzano-Agugliaro, F. (2014) Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production* 65:16-27

Sánchez-Muros, M.-J, De Haro, C. und Sanz, A. (2015) Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquaculture Nutrition*

Schiavone, A., De Marco, M., Rotolo, L., Belforti, M., Martinez Mirò, S., Madrid Sanchez, J., Hernandez Ruiperez, F., Bianchi, C., Sterpone, L., Malfatto, V., Katz, H., Zoccarato, I., Gai, F., Gasco, L., 2014. Nutrient digestibility of *Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor* meal in broiler chickens. In: *Abstract Book Conference Insects to Feed The World*

Selhub, J. (1999) Homocysteine metabolism. *Annu Rev. Nutr.* 19:217-246

Sewell, A. Hollerbeck, C.B und Bruce, B. (2002) The effect of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism* 87:118-121

Shimada, Y.; Morita, T.; und Sugiyama, K. (2003) Increased response of liver microsomal delta 6-desaturase activity to dietary methionine in rats. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 67:743-751

Shimano, H. (2001) Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes. *Progress in Lipid Research* 40(6):439-452

Shin, E.S.; Lee, H.H.; Cho, S.Y.; Park, H.W.; Lee, S.J. und Lee, T.R. (2007) Genistin downregulates SREBP-1 regulated gene expression by inhibiting Site-1 Protease expression in HepG2 cells. *Journal of Nutrition.* 137:1127-1131

Shukla, A.; Brandsch, C.; Bettzieche, A.; Hirche, F.; Eder, K. und Stangl, G.I. (2007) Isoflavone-poor Soy protein alters the lipid metabolism of rats by SREBP-mediated down-regulation of hepatic genes. *Journal of Nutritional Biochemistry* 18:313-321

Siemianowska, E., Kosewska, A., Aljewicz, M., Skibniewska, K.A., Polak-Juszczak, L., Jarocki, A. und Jedras, M. (2013) Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. *Agriculture Science* 4(6):287-291

Sim, W.-C.; Yin, H.-Q.; Choi, H.-S.; Choi, Y.-J.; Kwak, H.C.; Kim, S.-K. und Lee, B.-H. (2015) L-serine supplementation attenuates alcoholic fatty liver by enhancing homocysteine metabolism in mice and rats. *Journal of Nutrition.* 145:260-267

Sitori, C.R.; Lovati, M.R.; Manzoni, C.; Monetti, M.; Pazzucconi, F. und Gatti, E. (1998) Soy and cholesterol reduction: clinical experience. *Journal of Nutrition* 125:598-605

Skov, A.R., Toubro, S., Ronn, B., Holm, L. und Astrup, A. (1999) Randomized trial on protein vs. Carbohydrate in *ad libitum* fat reduces diet fort he treatment of obesity. *International Journal of Obesity* 23:528-536

- Smith, P. (2010) Competition for land. *Philosophical Transactions of Royal Society* 365, 2941-2957
- Sogbesan, A.O., Ajouru, N., Musa, B.O. und Adewole, A.M. (2006) Harvesting Techniques and Evaluation of Maggot Meal as Animal Dietary Protein Source for 'Heteroclitarias' in Outdoor Concrete Tanks. *World Journal of Agricultural Sciences* 2(4) 394-402
- Spielmann, J.; Stangl, G.I. und Eder, K. (2008) Dietary pea protein stimulates bile acid excretion and lowers hepatic cholesterol concentration in rats. *Journal of Animal Physiological Nutrition* 92:683-693
- Staels B., Dallongeville J., Auwerx J., Schoonjans K., Leitersdorf E., Fruchart J.-C. (1998) Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 98: 2088-2093
- Stamer, A. (2009) Alternative tierische Proteine im Fischfutter. *Ökologie und Landbau* 151, 3/2009
- Stamer, A. (2015) Insect proteins – a new source for animal feed *EMBO reports* 16:676-680
- Stamer, A., Wesselss, S., Neidigk, R. und Hoerstgen-Schwark, G. (2014) Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae-meal as example for a new food ingredients class in aquaculture diets, 'Building Organic Bridges' zum Organic World Congress 2014, 13-15 Okt., Istanbul, Turkey
- Stanley, M.M.; Paul, D.; Gacke, D. und Murphy, J. (1973) Effects of cholestyramine, metacul, and cellulose on fecal bile salt excretion in man. *Gastroenterology* 65:889-894
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M. und De Haan, C. (2006) Livestock's long shadow. Environmental issues and options. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 319 pp
- Strijbis, K., Vaz, F.M. und Distel, B. (2010) Enzymology of the carnitine biosynthesis pathway. *IUBMB life* 62:357-362
- Stryer, L; Berg, J.M.; Tymoczko, J.L. (2007) *Biochemie*, 6. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag
- Su, J. L.; Simmons, C. J.; Wisely, B.; Ellis, B.; Winegar, D. A. (1998): Monitoring of PPAR Alpha Protein Expression in Human Tissue by the Use of PPAR Alpha- Specific Mabs. *Hybridoma* 17:47-53
- Subasinghe, R.; Soto, D und Jia, J. (2009) Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture* 1: 2-9

Sugano, M.; Fujikawa, T.; Hiratsuji, Y. und Hasegawa, Y. (1978) Hypocholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutrition Reports International* 18:531-537

Sugano, M.; Fujikawa, T.; Hiratsuji, Y.; Nakashima, N.; Fukuda, N. und Hasegawa, Y. (1980) A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *American Journal of Clinical Nutrition* 33:787-793

Sugano, M.; Ishiwaki, N. und Nakashima, K. (1984) Dietary protein-dependent modification of serum cholesterol level in rats. Significance of the arginine/lysine ratio. *Annals of Nutrition and Metabolism* 28:192-199

Sugiyama K, Kanamori H, Akachi T, Yamakawa A. Amino acid composition of dietary proteins affects plasma cholesterol concentration through alteration of hepatic phospholipid metabolism in rats fed a cholesterol-free diet. *Journal of Nutritional Biochemistry* 1996(7):40 – 8

Sugiyama, K., Yamakawa, A., Kumazawa, A. und Saeki, S. (1997) Methionine content of Dietary Proteins Affects the Molecular Species Composition of Plasma Phosphatidylcholine in Rats Fed a Cholesterol-Free Diet. *Journal of Nutrition* 127(4):600-607

Sun, L.P.; Seemann, J.; Goldstein, J.L. und Brown, M.S. (2007) Sterol-regulated transport of SREBPs from endoplasmic reticulum to Golgi: Insig renders sorting signal in Scap inaccessible to COPII proteins. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 104:6519-6526

Sun, Y.; Yao, T.; Guo, X.; Peng, Y. und Zheng, J. (2016) simultaneous assessment of endogenous thio compounds by LC-MS/MS. *Journal of Chromatography B*. 1029-1030:213-221

Tacon, A.G.J. (1993) Feed ingredients for Warmwater Fish: Fish Meal and other processed Feedstuffs, *FAO Fisheries Circular* No. 856

Tapola, N.S.; Lyyra, M.L.; Kolehmainen, R.M.; Sarkkinen, E.S. und Schauss, A.G. (2008) Safety aspects and cholesterol-lowering efficacy of chitosan tablets. *Journal of the American College of Nutrition* 27:22-30

Teles, AO; Lupatsch, L und Nengas, L (2011) Nutrition and Feeding of Sparidae. *Wiley-Blackwell*, 199-232

Thornton, B. und Basu, C. (2010) Real-Time PCR (qPCR) Primer Design using free online Software. *Biochemistry and Molecular Biology Education* 2:145-154

Tillander, V., Alexson, S.E.H. und Cohen, D.E. (2017) Deactivating Fatty Acids: Acyl-CoA Thioesterase-Mediated Control of Lipid Metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 28(7):473-484

Torre-Villalvazo, I.; Tovar, A.R.; Ramos-Barragan, V.E.; Cerbon-Cervantes, M.A. und Torres, N. (2008) Soy protein ameliorates metabolic abnormalities in liver and adipose tissue of rats fed a high fat diet. *Journal of Nutrition* 138:462-468

Tovar-Palacio, C.; Potter, S.M.; Hafermann, J.C. und Shay, N.F. (1998) Intake of soy protein and soy protein extracts influences lipid metabolism and hepatic gene expression in gerbils. *Journal of Nutrition* 128:839-842

Tovar, A.R., Torre-Villavazo, I., Ochoa, M., Elias, A.L., Oritz, V. Aguilar-Salinas, C.A. und Torres, N. (2005) Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats. *Journal of Lipid Research* 46

Tovar, A.R.; Ascencio, C. und Torres, N. (2002) Soy protein, casein, and zein regulate histidase gene expression by modulating serum glucagon. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 283(5):1016-1022

Tran, G., Gnaedinger, C. und Mélin, C. (2015) Mealworm (*Tenebrio molitor*). Feedipedia, apogramm by INRA, CIRAD, AFZ und FAO

Tromberlin, JK; van Huis, A; Benbow, ME; Jordan, H; Astuti, DA; Azzollini, D; Banks, I; Bava, V; Borgemeister, C; Cammack, JA; Chapkin, RS; Cickova, H; Crippen, TL; Day, A; Dicke, M; Drew, DJW; Emhart, C; Epstein, M; Finke, M; Fischer, CH; Gatlin, D; Grabowski, NT; He, C; Heckman, L; Hubert, A; Jacobs, J; Josephs, J; Khanal, SK; Kleinfinger, JF; Klein, G; Leach, C; Liu, Y; Newton, GL; Olivier, R; Pechal, JL; Picard, CJ; Rojo, S; Roncarati, A; Sheppard, C; Tarone, AM; Verstappen, B; Vickerson, A; Yang, H; Yen, AL; Yu, Z; Zhang, J; Zheng, L (2015) Protecting the environment through insect farming as a means to produce protein for use as livestock, poultry, and aquaculture feed. *Journal of Insects as Food and Feed* 1(4):307-309

Truman, J.W. (2019) Evolution of Insect Metamorphosis. *Current Biology* 29:1252-1268

Turck, D.; Castenmiller, J.; De Henauw, S.; Hirsch-Ernst, K.I.; Kearney, J.; Maciuk, A.; Mangelsdorf, I.; McArdle, H.J.; Naska, A.; Pelaez, C.; Pentieva, K.; Siani, A.; Thies, F.; Tsalouri, S.; Vinceti, M.; Cubadda, F.; Frenzel, T.; Heinonen, M.; Marchelli, R.; Neuhaeuser-Berthold, M.; Poulsen, M.; Maradona, M.P.; Schlatter, J.R.; van Loveren, H.; Ververis, E. und Knutsen, H.K. (2021) Safety of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor larva*) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283; *EFSA Journal* 2021

- Vahouny, G.V., Adamson, I., Chalcarz, W., Satchithanandam, S., Muesing, R., Klurfeld, D.M., Tepper, S.A., Sanghvi A. und Kritchevsky, D. (1985) Effects of casein and soy protein on hepatic and serum lipids and lipoprotein distributions in rat. *Atherosclerosis* 56(2):127-137
- Van Broekhoven, S., Oonincx, D.G.A.B., Van Huis, A. und Van Loon, J.J.A. (2014) Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (*Coleoptera: Tenebrionidae*) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology* 73 1-10
- Van der Veen, J.N.; Kennelly, J.P.; Wan, S.; Vance, J.E.; Vance, D.E.; und Jacobs, R.L. (2017) The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes* 1859:1558-1572
- Van der Veen, J.N.; Lingrell, S. und Vance, D.E. (2012) The membrane lipid phosphatidylcholine is an unexpected source of triacylglycerol in the liver. *Journal of Biological Chemistry* 287: 23418-23426
- Van Huis, A. (2015) Edible Insects are the future? Conference on ‘The future of animal products in the human diet: health and environmental concerns’, The Nutrition Society Summer Meeting 2015 an der University of Nottingham, 6.-9- July 2015
- Van Huis, A., Dicke, M und Van Loon, J.J.A. (2015) Insects to feed the world. *Journal of Insects as Food and Feed* 1(1): 3-5
- Van Huis, A., Van Herbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G. und Vantomme, P. (2013) Edible Insects Future prospects for food and feed security, FAO Forestry Paper 171, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy
- Van Itterbreec, J. und Van Huis, A. (2012) Reviw: Enviromental manipulation for edible insect procurement: ahistorical perspective. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 8:3
- Van Krimpen, M.M., Bikker, P., Van der Meer, I.M., Van der Peet-Schwering, C.M.C. und Vereijken, J.M. (2013) Cultivation, processing and nutritional aspects for pigs and poultry of European protein sources as alternatives for imported soybean products, Livestock Research UR
- Van Zanten, H.H.E.; Bikker, P., Meerburg, B.G. und De Boer, I.J.M. (2018) Attributional versus consequential life cycle assessment and feed optimization: alternative protein sources in pig diets. *International Journal of Life Cycle Assessment* 23:1-11
- Vance, D.E., Walkey, C.J. und Cui, Z. (1997) Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase from liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Lipids and Lipid Metabolism* 1348(1-2):142-150

Veldkamp, T. und Bosch, G. (2015) Insects: a protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Animal Frontiers* Vol. 5(2)

Veldkamp, T. und Vernooji, A.G. (2021) Use of insect products in pig diets. *Journal of Insects as Food and Feed* 7(5):781-793

Veldkamp, T., Van Duinkerken, G., Van Huis, A., Lakemond, C.M. M., Ottevanger, E., Bosch, G. und Van Boekel, M.A.J.S. (2012) Insects as a Sustainable Feed Ingredient in Pig and Poultry Diets –A Feasibility Study. Rapport 638. Lelystad, Wageningen Livestock Research.

Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA, 2007) Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Methodenbuch Band III, Ergänzungslieferungen von 1983, 1988, 1992, 1997, 2004, 2006, 2007; VDLUFA-Verband, Darmstadt

Verbeke, W; Spranghers, T; De Clercq, P; Smet, S; Sas, B; Eeckhout, M (2015) Insects in animal feed: acceptance and its determinants among farmers, agriculture sector stakeholders and citizens. *Animal Feed Science Technology* 204:72-87

Verbeke, W. (2015) Profiling consumers who are ready to adopt insects as a meat substitute in a Western society. *Food Quality and Preference* 39:147-155

Verlinden, A.; Hesta, M.; Millet, S. und Janssens, G.P.J. (2006) Food allergy in dogs and cats: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46:259-273

Virtanen, J.K.; Voutilainen, S.; Rissanen, T.H.; Happonen, P.; Mursu, J.; Laukkanen, J.A.; Poulsen, H.; Lakka, T.A. und Salonen, J.T. (2006) High dietary methionine intake increases the risk of acute coronary events in middle-aged men. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 16(2): 113-120

Voet, D. und Voet, J.G. (2004) *Biochemistry*. 3. Auflage, John Wiley & Sons

Vrabec, V., Kulma, M. und Cocan, D. (2015) Insects as an Alternative Protein Source for Animal Feeding: A short Review about Chemical Composition. *Bulletin Animal Science and Biotechnologies* 72(2)

Wahli, W.; Braissant, O.; Desvergne, B. (1995): Peroxisome proliferator activated receptors: transcriptional regulators of adipogenesis, lipid metabolism and more. *Chemistry & Biology* 2 (5):261–266

Walsh, A.M.; Sweeney, T.; Bahar, B.; Flynn, B. und O'Doherty, J.V. (2012) The effect of chitoooligosaccharide supplementation on intestinal morphology, selected microbial populations, volatile fatty acid concentrations and immune gene expression in the weaned pig. *Animal* 6:1620-1626

- Wang, D.; Zhai, S.W.; Zhang, C.X.; Zhang, Q. und Chen, H. (2007) Nutritional value of the Chinese grasshopper *Acrida cine rea* (Thunberg) for broilers. *Animal Feed Science Technology* 135:66-74
- Wang, X., Sato, R., Brown, M.S., Hua, X. und Goldstein, J.L. (1994) SREBP-1, a membran-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell* 77:53-62
- Wang, X., Sato, R., Brown, M.S., Hua, X. und Goldstein, J.L. (1994) SREBP-1, a membran-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell* 77:53-62
- Wang, Y.C., Chen, Y.T., Li, X.R., Xia, J.M., Du, Q., Sheng, Z.C., 1996. Study on rearing the larvae of *Tenebrio molitor* Linne and the effects of its processing and utilization. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis* 30, 288–292.
- Wehrstuck, G.H.; Leutz, S.R.; Dayal, S.; Hossain, G.S.; Sood, S.K.; Zhou, J.; Shi, Y.Y.; Maeda, N.; Krisans, S.K.; Malinow, M.R. und Austin, R.C. (2001) Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *Journal of Clinical Investigation* 107:1263-1273
- Weigle, D.S., Breen, P.A., Matthys, C.C., Callahan, H.S., Meeuwa, K.E., Burden, V.R. und Pumell, J.G. (2005) A high-protein diet induces sustained reductions in appetite, *ad libitum* caloric intake, and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations. *American Journal of Clinical Nutrition* 82(1):41-48
- Weiß, M. (2003) Homocystein – ein kardiovaskulärer Risikofaktor? – betrachtet unter sportmedizinischen Aspekten. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* Jahrgang 54 Nr. 4:102-107
- Wen, G. Ringseis, R. und Eder, K. (2010) Mouse OCTN2 is directly regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) via a PPRE located in the first intron. *Biochemical Pharmacology* 79:768-776
- Werstuck, G.H., Lentz, S.R., Dayal, S., Hossain, G.S., Sood, S.K., Shi, Y.Y., Zhou, J., Maedi, N., Krisans, S.K., Malinow, M.R. und Austin, R.C. (2001) Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *Journal of Clinical Investigation* 107(10):1263-1273
- WHO global InfoBase team (2005) The SuRF Report 2, Surveillance of chronic disease risk factors; country-level data and comparable estimates, World Health Organization, Geneva
- Wiedemann, S.; McGahan, E. und Murphy, C. (2016) Environmental impacts and resource use from Australian pork production assessed using life-cycle assessment. *Greenhouse gas emissions. Animal Production Science* 56:14
- Willson, T. M.; Brown, P. J.; Sternbach, D. D.; Henke, B. R. (2000): The PPARs: From

Orphan Receptors to Drug Discovery. *Journal of Medicinal Chemistry* 43 (4):527–550

Wilson, P.W.; D'Agostino, R.B. und Sullivan, L. (2002) Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Archives of Internal Medicine* 162:1867-1872

Wilson, R.P. (2002) Protein and amino acids, in: Halver, J.E. und Hardy, R.W. (Eds.) Fish Nutrition. *Elsevier Science*, 144-179

Wu, G., Fanzo, J., Miller, D.D., Pingali, P., Post, M., Steiner, J.L. und Thalacker-Mercer, A.E. (2014) Production and supply of high-quality food protein for human consumption: sustainability, challenges, and innovations. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1321:1-19

Yabe, D.; Brown, M.S. und Goldstein, J.L. (2002) Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 99:12753-12758

Yahia, D.A., Madani, S., Prost, J., Bouchenak, M. und Belleville, J. (2005) Fish protein improves blood Pressure but alters HDL₂ and HDL₃ composition and tissue lipoprotein lipase activities in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Nutrition* 44:10-17

Yahia, D.A., Madani, S., Savelle, J.-L., Prost, J., Bouchenak, M. und Belleville, J. (2005) Dietary fish protein lowers blood pressure and alters tissue polyunsaturated fatty acid composition in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nutrition* 19(4):342-346

Yan, Y.; Wanshun, L.; Baoqin, H.; Bing, L. und Chenwei, F. (2006) Protective effects of chitosan oligosaccharide and its derivatives against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *Hepatology Research* 35:178-184

Yang, T.; Espenshade, P.J.; Wright, M.E.; Yabe, D.; Gong, Y.; Aebersold, R.; Goldstein, J.L. und Brown, M.S. (2002) Crucial step in cholesterol homeostasis: sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER. *Cell* 110(4):489-500

Yang, W.; Yoshigoe, K.; Qin, X.; Liu, J.S.; Yang, J.Y.; Niemierko, A.; Deng, Y.; Liu, Y.; Dunker, A.K.; Zhongxue, C.; Wang, L.; Xu, D.; Arabnia, H.R.; Tong, W. und Yang, M.Q. (2014) Identification of genes and pathways involved in kidney renal clear cell carcinoma. *BMC Bioinformatics* 15(17):1-10

Yang, Y.; Liu, M.; Gu, Y., Lin, S.; Ding, F. und Gu, X. (2009) Effect of chitoooligosaccharide on neuronal differentiation of PC-12 cells. *Cell Biology International* 33:352-356

Ye, J.; Coulouris, G.; Zaretskaya, I.; Cutcutache, I.; Rozen, S. und Madden, T.L. (2012) Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BCM Bioinformatics* 13:134

- Yen, A. (2009) Edible insects: Traditional knowledge or western phobia? *Entomological Research* 39:289-298
- Yen, A. (2014) Insects as food and feed in the Asia Pacific region: current perspectives and future directions. *Journal of Insects as Food and Feed* 1(1): 33-55
- Yokoyama, C.; Wang, X.; Briggs, M.R.; Admon, A.; Hua; X. (1993): SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* 75 (1):187-197
- Young, V.R. (1991) Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *Journal Animal Diet Association* 91:828-835
- Yu, K.; Bayona, W.; Kallen, C. B.; Harding, H. P.; Ravera, C. P.; McMahon, G. et al. (1995): Differential activation of peroxisome proliferator-activated receptors by eicosanoids. *Journal of Biological Chemistry* 270:23975–23983
- Zhan, S. und Ho, S.C. (2005) Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(2):397-408
- Zhang, J.; Jui, J.; Li, L. und Xia, W. (2008) Dietary chitosan improves hypercholesterolemia in rats fed high-fat diets; *Nutrition Research* 28:383-390
- Zhang, S. und Ho, S.C. (2005) Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(2):297-408
- Zucker, L.M. und Antoniades, H. N. (1972) Insulin and Obesity in the Zucker Genetically Obese Rats "Fatty". *Endocrinology* 90:1320-1330
- Zucker, L.M. und Zucker, T.F. (1961) Fatty, a new mutation in the rat

Ehrenwörtliche Erklärung

Ehrenwörtliche Erklärung zu meiner Dissertation mit dem Titel: Einfluss von Insektenprotein auf den Lipidstoffwechsel bei Zuckerratten.

„Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten und nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Ort, Datum

(Annemarie Schulz geb. Schwarz)

Danksagung

Mein herzlichster Dank geht an Prof. Dr. Eder für die Möglichkeit am Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie zu promovieren und für die Vergabe dieses interessanten und innovativen Themas und für all die gute Unterstützung während meiner Promotionszeit.

Bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Wenzel für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Mein weiterer Dank gilt Prof. Dr. Zorn und seiner Arbeitsgruppe für die Kooperation.

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Gessner für die Betreuung meiner Arbeit.

Außerdem danke ich Prof. Dr. Ringseis und dem gesamten Team des Instituts für Tierernährung und Ernährungsphysiologie für die Unterstützung.

Mein Dank geht an die Doktoranden des Instituts. Ihr habt mich nicht nur unterstützt, sondern es sind Freundschaften für´s Leben entstanden.

Schließlich danke ich meiner Familie und meinen Freunden. Ohne Euch wäre das nicht möglich gewesen.

Anhang Microarray-Daten

Tabelle Anhang 1: Hochregulierte Gene (216) aus dem Vergleich der fettleibigen Casein-Gruppe (OC) und der fettleibigen Insektenmehlgruppe (OI100) absteigend nach Fold Change dargestellt.

Gensymbol	Genbeschreibung	LC vs. OC		OI50 vs. OC		OI100 vs. OC	
		Fold Chang e	p-Wert	Fold Chang e	p-Wert	Fold Chang e	p-Wert
LOC10036009 5	urinary protein 1-like	59,78	0,0037	8,11	0,0820	13,37	0,0466
Car3	carbonic anhydrase 3	9,37	0,0000	2,24	0,0161	5,55	0,0000
Mup5	major urinary protein 5	14,32	0,0022	4,40	0,0420	5,02	0,0296
LOC685482	similar to alpha2u globulin	15,04	0,0010	4,14	0,0321	4,77	0,0208
LOC259244	alpha-2u globulin PGCL3	11,22	0,0010	4,01	0,0249	4,72	0,0146
Mt1a	metallothionein 1a	3,47	0,0152	1,58	0,3197	4,51	0,0053
LOC500473	similar to alpha-2u globulin PGCL2	11,33	0,0029	3,76	0,0534	4,31	0,0361
LOC10091202 6	urinary protein 3-like	43,78	0,0000	1,37	0,5528	4,24	0,0104
Mt2A	metallothionein 2A	1,83	0,3749	1,42	0,6066	4,07	0,0387
Ust5r	integral membrane transport protein UST5r	6,79	0,0005	2,24	0,0548	3,38	0,0083
Cyp7a1	cytochrome P450, family 7, subfamily a, polypeptide 1	-2,72	0,0564	1,84	0,1403	3,37	0,0014
Mt1m	metallothionein 1M	1,80	0,2922	1,56	0,4508	3,12	0,0458
Mt1a	metallothionein 1a	3,21	0,0065	1,49	0,3953	3,12	0,0101
Dhrs7	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 7	7,84	0,0006	2,25	0,0663	2,72	0,0398
Tsku	tsukushi, small leucine rich proteoglycan	-1,34	0,2340	2,21	0,0109	2,64	0,0361
Hsd17b2	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 2	1,46	0,0584	1,42	0,2846	2,58	0,0409
Hal	histidine ammonia lyase	3,83	0,0001	1,66	0,0341	2,52	0,0016
Psat1	phosphoserine aminotransferase 1	-2,59	0,0006	1,64	0,0085	2,46	0,0012
Cyp2b2	cytochrome P450, family 2, subfamily b, polypeptide 2	1,10	0,6124	1,72	0,0953	2,44	0,0007
Aox3	aldehyde oxidase 3	12,80	0,0000	1,68	0,0278	2,32	0,0022
Csad	cysteine sulfinic acid decarboxylase	-1,51	0,1101	1,35	0,1154	2,20	0,0000
Akr1c1	aldo-keto reductase family 1, member C1	1,55	0,0206	1,51	0,0317	2,19	0,0000
Stac3	SH3 and cysteine rich domain 3	21,50	0,0000	1,70	0,0982	2,18	0,0295
Sez6	seizure related 6 homolog (mouse)	2,66	0,0003	1,54	0,0224	2,09	0,0012
Acsn3	acyl-CoA synthetase medium-chain family member 3	2,36	0,0003	1,45	0,0133	2,06	0,0002
Rdh16	retinol dehydrogenase 16 (all-trans)	2,47	0,0024	1,49	0,0825	2,05	0,0063
Amdhd1	amidohydrolase domain containing 1	2,21	0,0174	1,79	0,0307	2,01	0,0123
Asns	asparagine synthetase (glutamine- hydrolyzing)	-2,81	0,0041	1,29	0,1945	2,00	0,0163

Anhang Microarray-Daten

Gsta5	glutathione S-transferase alpha 5	1,16	0,1860 1	1,46	0,0039 5	1,96	0,0010 4
Aox1	aldehyde oxidase 1	2,43	0,0000 0	1,39	0,0100 8	1,96	0,0000 3
Acnat2	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 2	22,42	0,0000 7	1,21	0,6052 8	1,95	0,0352 9
Nnmt	nicotinamide N-methyltransferase	1,61	0,0423 4	1,11	0,6510 8	1,94	0,0116 4
Nat8	N-acetyltransferase 8	1,30	0,1768 4	1,38	0,0440 4	1,94	0,0044 6
Hsd3b5	hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 5	2,23	0,0023 3	1,75	0,0200 7	1,92	0,0079 5
LOC100364391	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 7-like	3,65	0,0000 5	1,93	0,0101 2	1,90	0,0057 3
Gpt2	glutamic pyruvate transaminase (alanine aminotransferase) 2	1,29	0,1035 2	1,32	0,0814 2	1,89	0,0017 3
Fmo1	flavin containing monooxygenase 1	2,95	0,0044 2	-1,16	0,5437 0	1,86	0,0207 4
Sdr42e1	short chain dehydrogenase/reductase family 42E, member 1	1,14	0,4055 9	1,37	0,0949 2	1,83	0,0128 7
Ugp2	UDP-glucose pyrophosphorylase 2	1,61	0,0068 4	1,54	0,0198 4	1,81	0,0015 4
Cyp8b1	cytochrome P450, family 8, subfamily b, polypeptide 1	1,87	0,0435 8	1,36	0,2378 8	1,80	0,0459 2
Olr1068	olfactory receptor 1068	1,20	0,1741 8	1,21	0,2481 1	1,74	0,0266 3
Gm6096	predicted gene 6096 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:3649053]	1,55	0,0950 7	1,29	0,2945 0	1,73	0,0375 1
A2m	alpha-2-macroglobulin	2,03	0,0382 7	1,15	0,2133 8	1,72	0,0110 9
Lrtm2	leucine-rich repeats and transmembrane domains 2	1,23	0,0723 6	1,61	0,0012 6	1,71	0,0007 4
Cyp1a1	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1	-1,11	0,3319 4	1,50	0,0136 0	1,71	0,0121 8
Akr7a3	aldo-keto reductase family 7, member A3 (aflatoxin aldehyde reductase)	-1,18	0,4352 1	1,38	0,1470 2	1,71	0,0173 9
Prss32	protease, serine, 32	-1,16	0,4540 7	1,56	0,0342 7	1,69	0,0069 0
Car12	carbonic anhydrase 12	-1,36	0,1565 3	1,34	0,2306 2	1,68	0,0151 5
LOC100360049	rCG64165-like	1,47	0,1568 3	1,27	0,3134 4	1,66	0,0214 9
Nr1i3	nuclear receptor subfamily 1, group I, member 3	1,15	0,2727 4	1,29	0,0139 4	1,66	0,0002 6
Il6r	interleukin 6 receptor	1,49	0,0152 3	1,45	0,0046 5	1,62	0,0001 4
Adh7	alcohol dehydrogenase 7 (class IV), mu or sigma polypeptide	1,11	0,3486 8	1,40	0,0191 1	1,61	0,0002 4
Ppp1r3b	protein phosphatase 1, regulatory subunit 3B	-1,21	0,0328 3	1,45	0,0159 9	1,61	0,0000 7
Olr1694	olfactory receptor 1694	2,23	0,0001 5	1,35	0,0155 3	1,60	0,0026 3
LOC680579	similar to ribosomal protein L14 [Source:RGD Symbol;Acc:1590581]	1,08	0,6669 4	1,00	0,9876 4	1,60	0,0364 2
Csm1	CUB and Sushi multiple domains 1	-1,39	0,0013 7	1,41	0,0021 0	1,58	0,0007 7
Oas1b	2-5 oligoadenylate synthetase 1B	1,26	0,1332 4	1,31	0,0100 6	1,58	0,0206 6
Slc37a4	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 4	1,39	0,0040 3	1,30	0,0072 8	1,57	0,0004 8
Mir376b	microRNA 376b	1,22	0,1569 6	1,07	0,5640 0	1,57	0,0073 2
C1ql4	complement component 1, q subcomponent-like 4	1,48	0,0026 4	1,33	0,0226 7	1,56	0,0233 3
RGD1310209	similar to KIAA1324 protein	1,70	0,0071 3	1,13	0,5651 2	1,56	0,0227 5

Anhang Microarray-Daten

Zfp354a	zinc finger protein 354A	1,14	0,3079 7	1,50	0,0583 7	1,55	0,0190 4
Gsta3	glutathione S-transferase alpha 3	-2,67	0,0000 2	1,26	0,1136 0	1,55	0,0004 1
Olr1266	olfactory receptor 1266	1,28	0,1925 7	1,13	0,4778 7	1,54	0,0344 4
Ptger3	prostaglandin E receptor 3 (subtype EP3)	1,27	0,0273 7	1,26	0,1144 0	1,53	0,0031 6
LOC501426	putative V-set and immunoglobulin domain-containing-like protein IGHV4OR15-8	2,43	0,0007 1	1,40	0,1732 1	1,53	0,0107 9
Ido2	indoleamine 2,3-dioxygenase 2	-1,10	0,3342 9	1,23	0,0716 0	1,52	0,0028 6
Tc2n	tandem C2 domains, nuclear	1,65	0,0010 4	1,28	0,1159 4	1,52	0,0027 0
LOC10091270 7	Ig kappa chain V19-17-like [Source:RGD Symbol;Acc:6485939]	1,38	0,0898 9	1,05	0,6713 2	1,52	0,0147 1
Mir122	microRNA 122	1,04	0,7712 1	1,32	0,0807 3	1,52	0,0334 1
Stmn3	stathmin-like 3	1,04	0,5943 0	1,08	0,3046 2	1,51	0,0001 3
Ar	androgen receptor	1,81	0,0009 0	1,27	0,0455 8	1,51	0,0015 9
Neu1	neuraminidase 1	1,27	0,0367 7	1,40	0,0072 4	1,51	0,0136 5
Enpp2	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2	1,38	0,0165 8	1,19	0,1772 6	1,50	0,0046 7
Olr734	olfactory receptor 734	1,06	0,5173 6	1,42	0,0119 7	1,50	0,0083 6
Tas1r1	taste receptor, type 1, member 1	-1,00	0,9927 0	1,27	0,0319 8	1,50	0,0017 0
Wdr46	WD repeat domain 46	1,16	0,1871 1	1,47	0,0041 4	1,49	0,0183 4
Dao	D-amino-acid oxidase	1,66	0,0052 9	1,49	0,0087 9	1,49	0,0062 5
Olr665	olfactory receptor 665	1,52	0,1000 3	1,42	0,0073 6	1,49	0,0250 2
RGD1565682	similar to lipase-like, ab-hydrolase domain containing 2	3,47	0,0000 8	1,26	0,2115 0	1,48	0,0318 8
Phgdh	phosphoglycerate dehydrogenase	-1,31	0,0531 6	-1,10	0,4065 2	1,48	0,0237 2
LOC499235	LRRGT00141	1,36	0,1364 4	1,19	0,2220 3	1,48	0,0169 5
Polg2	polymerase (DNA directed), gamma 2, accessory subunit	1,49	0,0017 0	1,24	0,0685 1	1,48	0,0039 0
RGD1559600	RGD1559600	1,00	0,9869 3	1,13	0,2779 4	1,47	0,0050 7
Mir24-1	microRNA 24-1	-1,03	0,8512 8	1,10	0,4491 4	1,47	0,0269 0
LOC10255205 5	angiopoietin-related protein 7-like	1,21	0,1607 4	1,40	0,0387 4	1,47	0,0150 1
Hsd11b1	hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1	-1,09	0,6591 1	1,11	0,2563 4	1,47	0,0011 1
Gzmb13	Granzyme B-like 3	1,16	0,1129 5	1,21	0,0554 9	1,47	0,0063 4
Ppp1r3c	protein phosphatase 1, regulatory subunit 3C	1,42	0,0247 9	1,25	0,1362 8	1,47	0,0088 2
Pbld1	phenazine biosynthesis-like protein domain containing 1	1,74	0,0001 2	1,22	0,0137 7	1,46	0,0003 5
Acox2	acyl-CoA oxidase 2, branched chain	1,74	0,0009 9	1,08	0,5367 2	1,46	0,0120 3
Olr305	olfactory receptor 305	1,45	0,0067 3	-1,04	0,7470 6	1,46	0,0375 8
Scgb2a2	secretoglobin, family 2A, member 2	1,16	0,5487 8	1,15	0,2042 4	1,46	0,0126 3
Glyat	glycine-N-acyltransferase	1,40	0,0000 4	1,25	0,0013 1	1,46	0,0000 1

Anhang Microarray-Daten

Amacr	alpha-methylacyl-CoA racemase	2,14	0,0007 6	1,11	0,4942 5	1,45	0,0318 6
Pkib	protein kinase (cAMP-dependent, catalytic) inhibitor beta	1,41	0,0705 1	1,26	0,1886 6	1,45	0,0313 6
Ficd	FIC domain containing	1,07	0,5436 7	1,37	0,0053 7	1,45	0,0029 2
Aqp8	aquaporin 8	1,12	0,2592 3	1,26	0,0578 0	1,44	0,0010 4
Ero1b	endoplasmic reticulum oxidoreductase beta	1,12	0,1811 2	1,17	0,0743 1	1,44	0,0058 9
Olr396	olfactory receptor 396	-1,01	0,9411 7	-1,12	0,5580 3	1,44	0,0389 0
Gclm	glutamate cysteine ligase, modifier subunit	-1,18	0,1817 9	1,23	0,1615 1	1,44	0,0122 3
Prr16	proline rich 16	1,38	0,0072 6	1,19	0,1649 9	1,44	0,0096 3
P22k15	cystatin related protein 2	1,68	0,0042 9	1,47	0,0027 8	1,44	0,0006 3
LOC102546630	protein gar2-like	1,71	0,0033 0	1,17	0,1343 6	1,43	0,0053 7
Akap5	A kinase (PRKA) anchor protein 5	1,36	0,0025 0	1,27	0,0234 2	1,43	0,0000 0
Mir802	microRNA 802	1,08	0,7022 5	1,12	0,6041 7	1,43	0,0464 7
Car5a	carbonic anhydrase 5a, mitochondrial	1,09	0,2863 4	1,16	0,1122 9	1,43	0,0054 2
Nqo1	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	-1,01	0,9259 1	1,13	0,2010 7	1,43	0,0012 6
Spetex-2E	Spetex-2E protein	1,29	0,0200 8	1,17	0,1294 6	1,43	0,0126 8
RGD1562699	RGD1562699	1,06	0,5305 6	1,18	0,1161 5	1,42	0,0041 8
Cobl11	cordon-bleu WH2 repeat protein-like 1	1,00	0,9854 2	1,06	0,5833 6	1,42	0,0215 1
Zfp945	zinc finger protein 945	-1,01	0,9548 4	1,17	0,2309 3	1,42	0,0317 1
Prodh	proline dehydrogenase (oxidase) 1	1,29	0,0382 6	1,18	0,1834 8	1,41	0,0128 9
Tmem150b	transmembrane protein 150B	1,54	0,0065 7	1,19	0,2304 9	1,41	0,0140 5
Olr1722	olfactory receptor 1722	1,33	0,0075 1	1,35	0,0774 6	1,41	0,0425 0
Sdr9c7	short chain dehydrogenase/reductase family 9C, member 7	1,30	0,0249 3	1,22	0,0069 1	1,41	0,0001 3
Klrc2	killer cell lectin-like receptor subfamily C, member 2	1,14	0,3127 4	1,33	0,0748 5	1,41	0,0363 5
Fmo3	flavin containing monooxygenase 3	1,66	0,0000 5	1,10	0,0331 8	1,40	0,0058 5
Lhx8	LIM homeobox 8	2,17	0,0008 7	1,20	0,1436 3	1,40	0,0070 0
Prkd3	protein kinase D3	1,08	0,6547 2	1,11	0,4427 8	1,40	0,0109 3
Extl1	exostosin-like glycosyltransferase 1	-1,03	0,8309 4	1,15	0,2980 2	1,40	0,0104 8
Pparg	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	-1,06	0,5063 8	1,18	0,1339 9	1,40	0,0008 1
Mettl7b	methyltransferase like 7B	1,16	0,0176 1	1,27	0,0003 4	1,39	0,0000 2
Efhc2	EF-hand domain (C-terminal) containing 2	1,01	0,9249 4	1,05	0,7112 0	1,39	0,0339 0
Cyp1a2	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 2	1,35	0,0352 4	1,21	0,1072 6	1,39	0,0045 4
Pkib	protein kinase (cAMP-dependent, catalytic) inhibitor beta	1,51	0,0030 2	1,20	0,1877 7	1,39	0,0209 9
Sfxn2	sideroflexin 2	1,14	0,3348 2	1,18	0,2351 1	1,39	0,0111 9
Xcr1	chemokine (C motif) receptor 1	1,54	0,0020 4	1,21	0,1463 6	1,39	0,0206 0

Anhang Microarray-Daten

Crhbp	corticotropin releasing hormone binding protein	1,20	0,0560	1,33	0,0033	1,38	0,0014
Zfp697	zinc finger protein 697	1,08	0,4567	1,14	0,1294	1,38	0,0001
Kmo	kynurenine 3-monooxygenase (kynurenine 3-hydroxylase)	1,47	0,0010	1,17	0,1944	1,38	0,0052
Sdf211	stromal cell-derived factor 2-like 1	2,28	0,0000	1,37	0,0066	1,38	0,0013
Homer2	homer scaffolding protein 2	1,18	0,0282	1,14	0,0972	1,38	0,0042
Cyp2c13	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 13	1,79	0,0000	1,16	0,2781	1,38	0,0027
Olr1197	olfactory receptor 1197	1,13	0,2735	1,13	0,2464	1,38	0,0086
Arrdc3	arrestin domain containing 3	1,24	0,0318	1,28	0,0574	1,37	0,0055
Olr694	olfactory receptor 694	1,19	0,1942	1,17	0,2145	1,37	0,0323
Nmnat3	nicotinamide nucleotide adenyltransferase 3	1,47	0,0065	1,23	0,0622	1,37	0,0119
Ahcy	adenosylhomocysteinase	1,36	0,0048	1,22	0,0648	1,36	0,0032
Asrgl1	asparaginase like 1	-1,65	0,0013	1,44	0,0018	1,36	0,0018
Olr1069	olfactory receptor 1069	1,22	0,1690	1,10	0,3447	1,36	0,0331
Fam126b	family with sequence similarity 126, member B	1,34	0,0062	1,10	0,3223	1,36	0,0171
Taar7a	trace amine-associated receptor 7a	1,11	0,4788	1,24	0,1404	1,36	0,0344
Olr1471	olfactory receptor 1471	1,21	0,0311	1,12	0,2084	1,36	0,0296
Cd14	CD14 molecule	-1,17	0,5413	1,50	0,0017	1,36	0,0475
Cst9l	cystatin 9-like	1,29	0,0550	1,07	0,5713	1,35	0,0163
Bbs10	Bardet-Biedl syndrome 10	1,26	0,0015	1,28	0,0294	1,35	0,0020
Vom1r11	vomer nasal 1 receptor 11	1,13	0,0653	1,13	0,4793	1,35	0,0216
Fam46c	family with sequence similarity 46, member C	1,35	0,0202	1,27	0,0474	1,35	0,0062
Sat2	spermidine/spermine N1-acetyltransferase family member 2	2,34	0,0003	1,08	0,5352	1,35	0,0134
Vom2r-ps89	vomer nasal 2 receptor, pseudogene 89	1,33	0,0099	1,22	0,0488	1,35	0,0081
LOC102556148	probable N-acetyltransferase CML2-like	-1,03	0,8323	1,04	0,7498	1,35	0,0356
Hist2h2ab	histone cluster 2, H2ab	1,32	0,0043	1,19	0,0219	1,35	0,0072
Vwce	von Willebrand factor C and EGF domains	1,40	0,0016	1,24	0,0018	1,35	0,0011
LOC100909494	keratin-associated protein 4-7-like	1,17	0,1208	1,19	0,0855	1,35	0,0034
Mir137	microRNA 137	1,12	0,1734	1,11	0,0955	1,35	0,0001
Raly1	RALY RNA binding protein-like	-2,11	0,0000	1,10	0,4451	1,35	0,0237
Slc38a2	solute carrier family 38, member 2	-1,04	0,7204	1,18	0,1333	1,35	0,0070
Seps2	selenophosphate synthetase 2	1,14	0,2465	1,16	0,0850	1,35	0,0050
RGD1562381	similar to ribosomal protein S17	1,26	0,0388	1,21	0,0874	1,35	0,0078
Oas1k	2'-5' oligoadenylate synthetase 1K	1,19	0,0340	1,21	0,0501	1,34	0,0073
Hyou1	hypoxia up-regulated 1	1,20	0,0694	1,21	0,0034	1,34	0,0000

Anhang Microarray-Daten

Olr112	olfactory receptor 112	1,62	0,0204 6	1,09	0,4148 7	1,34	0,0080 7
RGD1565472	similar to RIKEN cDNA 2310003P10	1,05	0,6118 6	1,22	0,0118 2	1,34	0,0043 2
Pbld2	phenazine biosynthesis-like protein domain containing 2	1,30	0,0283 4	1,06	0,4508 6	1,34	0,0355 0
Olr1203	olfactory receptor 1203	1,64	0,0282 5	1,25	0,1564 6	1,34	0,0424 6
Nutm1	NUT midline carcinoma, family member 1	1,44	0,0044 2	1,28	0,0208 3	1,34	0,0072 1
Dhrs3	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 3	1,24	0,0128 3	1,06	0,5516 7	1,34	0,0032 6
Dio1	deiodinase, iodothyronine, type I	1,98	0,0000 8	1,28	0,0404 1	1,34	0,0227 2
Hfe	hemochromatosis	1,15	0,0996 3	1,18	0,0549 7	1,33	0,0005 9
A2ml1	alpha-2-macroglobulin-like 1	2,27	0,0008 7	1,09	0,3776 3	1,33	0,0017 5
Olr1436	olfactory receptor 1436	1,07	0,7096 5	1,15	0,3034 7	1,33	0,0451 7
Sult1c2a	sulfotransferase family, cytosolic, 1C, member 2a	2,21	0,0010 9	-1,26	0,2443 6	1,33	0,0288 0
Pck2	phosphoenolpyruvate carboxykinase 2 (mitochondrial)	-1,15	0,2289 5	1,02	0,8434 5	1,33	0,0003 1
Slc3a2	solute carrier family 3 (amino acid transporter heavy chain), member 2	-1,39	0,0005 7	1,09	0,1943 6	1,33	0,0333 4
Olr1601	olfactory receptor 1601	1,04	0,8273 4	1,12	0,3231 7	1,33	0,0159 9
Ppp1r15b	protein phosphatase 1, regulatory subunit 15B	1,16	0,0566 1	1,22	0,0336 5	1,33	0,0052 7
Ftcd	formimidoyltransferase cyclodeaminase	1,23	0,0070 4	1,20	0,0483 5	1,33	0,0015 4
Olr1052	olfactory receptor 1052	1,07	0,4686 9	1,28	0,0531 0	1,33	0,0318 8
LOC680316	similar to Cytochrome P450 11B1, mitochondrial precursor (CYPXIB1) (P450C11) (Steroid 11-beta- hydroxylase) (P450(11 beta)-DS)	1,25	0,0392 8	1,17	0,2049 3	1,33	0,0204 2
LOC502907	similar to immunoreceptor Ly49si1	1,47	0,0003 8	1,32	0,0131 1	1,33	0,0058 3
N4bp211	NEDD4 binding protein 2-like 1	1,18	0,1431 0	1,02	0,8580 9	1,33	0,0008 7
Oaf	out at first homolog	1,85	0,0025 3	1,23	0,0572 2	1,33	0,0332 8
Ugdh	UDP-glucose 6-dehydrogenase	1,28	0,0033 0	1,21	0,0097 1	1,33	0,0003 7
Olr1329	olfactory receptor 1329	-1,01	0,9324 5	1,13	0,2466 8	1,32	0,0319 4
Pnpla7	patatin-like phospholipase domain containing 7	1,10	0,2975 3	1,05	0,5188 2	1,32	0,0005 5
Iqcf3	IQ motif containing F3	1,27	0,0887 9	1,11	0,4516 6	1,32	0,0334 5
Asb15	ankyrin repeat and SOCS box containing 15	1,14	0,1865 3	1,11	0,2387 9	1,32	0,0049 3
LOC10036386 7	LRRGT00106-like	1,33	0,0073 1	1,29	0,0102 3	1,32	0,0146 4
Mir129-2	microRNA 129-2	1,32	0,0137 8	1,17	0,1618 4	1,32	0,0063 8
Creg1	cellular repressor of E1A-stimulated genes 1	1,09	0,2525 3	1,20	0,0190 2	1,32	0,0013 5
Crip2	cysteine-rich protein 2	1,41	0,0144 9	1,19	0,0929 8	1,32	0,0039 4
Mgat2	mannosyl (alpha-1,6-)-glycoprotein beta-1,2-N- acetylglucosaminyltransferase	1,08	0,3176 0	1,25	0,0141 9	1,32	0,0046 8
Slc6a9	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, glycine), member 9	-1,11	0,2715 1	1,25	0,0111 3	1,32	0,0082 5

Anhang Microarray-Daten

Sfrp4	secreted frizzled-related protein 4	1,31	0,0437 1	1,26	0,0152 8	1,32	0,0067 3
Fbxo31	F-box protein 31	1,06	0,4543 7	1,07	0,5014 6	1,32	0,0130 0
RGD1560784	similar to RIKEN cDNA B630019K06	1,39	0,0044 7	1,16	0,2111 9	1,32	0,0161 2
Olr613	olfactory receptor 613	1,08	0,6248 0	1,14	0,3796 9	1,32	0,0312 2
Mir218-2	microRNA 218-2	-1,01	0,9403 2	1,31	0,0255 6	1,32	0,0440 5
Olr318	olfactory receptor 318	1,19	0,1686 9	1,01	0,8722 9	1,32	0,0201 6
Bdh2	3-hydroxybutyrate dehydrogenase, type 2	-1,43	0,0062 8	-1,05	0,5496 8	1,32	0,0059 7
Tbccd1	TBCC domain containing 1	1,08	0,3741 9	1,25	0,0123 5	1,32	0,0046 9
Grk1	G protein-coupled receptor kinase 1	1,37	0,0104 1	1,25	0,1085 2	1,32	0,0135 3
Apof	apolipoprotein F	-1,02	0,8748 1	1,24	0,0980 7	1,31	0,0132 7
Mir21	microRNA 21	1,15	0,1944 0	1,11	0,0680 3	1,31	0,0016 9
Mrps11	mitochondrial ribosomal protein S11	1,27	0,0548 1	1,16	0,1780 9	1,31	0,0343 4
RGD1565356	similar to RIKEN cDNA 2210421G13	1,28	0,0199 3	1,11	0,0965 3	1,31	0,0009 2
Oas1a	2-5 oligoadenylate synthetase 1A	1,68	0,0018 6	1,25	0,0485 9	1,31	0,0089 6
Znf354b	zinc finger protein 354B	1,24	0,0700 8	1,39	0,0022 2	1,31	0,0059 0
Lgals7	lectin, galactoside-binding, soluble, 7	1,42	0,0193 4	1,13	0,2662 1	1,31	0,0297 9
Cacng6	calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 6	1,15	0,0837 8	-1,01	0,8981 1	1,31	0,0011 1
Trhde	thyrotropin-releasing hormone degrading enzyme	1,49	0,0074 8	1,09	0,5432 6	1,31	0,0449 3
LOC10369192 2	28S ribosomal protein L42, mitochondrial	1,20	0,1626 3	1,29	0,0295 4	1,31	0,0264 1
Gabpb11	GA binding protein transcription factor, beta subunit 1-like	1,25	0,0215 7	1,13	0,0679 0	1,31	0,0098 2
Cyp2d5	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 5	1,50	0,0030 8	1,39	0,0192 5	1,31	0,0421 3
Cks1b	CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B	1,22	0,0154 9	1,04	0,7268 9	1,31	0,0339 8

Tabelle Anhang 2: Herunterregulierte Gene (426) aus dem Vergleich der fettleibigen Casein-Gruppe (OC) und der fettleibigen Insektenmehlgruppe (OI100) absteigend nach Fold Change dargestellt.

Gensymbol	Genbeschreibung	LC vs. OC		OI50 vs. OC		OI100 vs. OC	
		Fold Chang e	p-Wert	Fold Chang e	p-Wert	Fold Chang e	p-Wert
Scd2	stearoyl-Coenzyme A desaturase 2	-14,11	0,0000	-6,21	0,0007	-9,59	0,0000
Acot1	acyl-CoA thioesterase 1	-6,76	0,0000	-4,68	0,0005	-5,51	0,0001
Tsx	testis specific X-linked gene	-29,34	0,0000	-2,14	0,1166	-5,27	0,0107
Pnpla3	patatin-like phospholipase domain containing 3	-2,41	0,0246	-1,50	0,1377	-3,34	0,0016
Igfbp5	insulin-like growth factor binding protein 5	-3,81	0,0025	-2,77	0,0125	-3,33	0,0022
Aspn	asporin	-3,80	0,0001	-4,39	0,0000	-3,29	0,0002
Insig1	insulin induced gene 1	-1,73	0,0524	-1,66	0,0203	-3,20	0,0002
Gstm3	glutathione S-transferase mu 3	-6,11	0,0002	-2,51	0,0163	-3,15	0,0073
Bmp8b	bone morphogenetic protein 8b	-3,66	0,0002	-1,83	0,0082	-3,05	0,0004
Pdk4	pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4	-1,11	0,6755	-2,21	0,0125	-3,00	0,0001
S100a11	S100 calcium binding protein A11	-2,66	0,0154	-2,43	0,0024	-2,83	0,0049
Figf	c-fos induced growth factor	-2,99	0,0004	-2,49	0,0006	-2,76	0,0002
RT1-CE4	RT1 class I, locus CE4	-3,55	0,0011	-2,51	0,0359	-2,75	0,0134
Fabp2	fatty acid binding protein 2, intestinal	-3,01	0,0000	-1,58	0,0001	-2,73	0,0000
Bex2	brain expressed X-linked 2	-2,47	0,0260	-2,51	0,0223	-2,68	0,0229
Cxcl13	chemokine (C-X-C motif) ligand 13	-3,78	0,0055	-2,47	0,0007	-2,51	0,0017
Pnpla5	patatin-like phospholipase domain containing 5	-2,01	0,0341	-1,62	0,1538	-2,51	0,0074
Lum	lumican	-1,49	0,3586	-2,51	0,0331	-2,50	0,0413
Lox	lysyl oxidase	-2,69	0,0002	-2,10	0,0007	-2,45	0,0000
Fabp4	fatty acid binding protein 4, adipocyte	-4,46	0,0005	-1,75	0,1139	-2,44	0,0160
G6pd	glucose-6-phosphate dehydrogenase	-1,24	0,3465	-1,62	0,1402	-2,41	0,0304
Colla1	collagen, type I, alpha 1	-1,76	0,0019	-2,08	0,0000	-2,34	0,0000
Acsl3	acyl-CoA synthetase long-chain family member 3	-2,37	0,0015	-1,54	0,0487	-2,30	0,0031
Cyp17a1	cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1	-6,09	0,0001	-2,06	0,0242	-2,28	0,0029
Aacs	acetoacetyl-CoA synthetase	-2,28	0,0000	-1,50	0,0183	-2,28	0,0000
Igd	immunoglobulin delta heavy chain constant region	-2,21	0,0038	-1,49	0,0425	-2,26	0,0002
Irs3	insulin receptor substrate 3	-1,30	0,1065	-1,58	0,0226	-2,25	0,0005
Ms4a18	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 18	-2,86	0,0094	-1,67	0,1397	-2,22	0,0193
Ednrb	endothelin receptor type B	-3,79	0,0003	-2,03	0,0163	-2,16	0,0112
Abcg2	ATP-binding cassette, subfamily G (WHITE), member 2	-1,59	0,0294	-1,85	0,0110	-2,16	0,0001

Anhang Microarray-Daten

Mfap4	microfibrillar-associated protein 4	-1,88	0,0024 3	-2,05	0,0000 1	-2,16	0,0004 2
Lgals2	lectin, galactoside-binding, soluble, 2	-2,00	0,0174 7	-1,96	0,0049 4	-2,13	0,0042 5
Dcn	decorin	-2,74	0,0130 0	-2,03	0,0018 5	-2,11	0,0029 2
Lrrn4	leucine rich repeat neuronal 4	-1,71	0,0566 1	-1,30	0,4649 4	-2,10	0,0212 8
Slc6a6	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter), member 6	2,36	0,0008 1	-1,48	0,0963 0	-2,08	0,0287 7
Oat	ornithine aminotransferase	1,25	0,3488 9	-2,41	0,0115 4	-2,01	0,0330 8
Fads1	fatty acid desaturase 1	-1,27	0,0131 1	-1,32	0,0033 5	-2,01	0,0002 1
Aldh1b1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1	-2,99	0,0000 2	-1,67	0,0019 7	-2,00	0,0054 4
Rhot1	ras homolog gene family, member T1	-1,53	0,1802 7	-1,12	0,7115 5	-1,99	0,0294 1
Crat	carnitine O-acetyltransferase	-1,66	0,0000 7	-1,99	0,0004 2	-1,98	0,0001 5
Klk1c9	kallikrein 1-related peptidase C9	-2,05	0,0044 4	-1,54	0,0402 4	-1,96	0,0013 3
Tagln	transgelin	-2,13	0,0020 0	-1,93	0,0003 2	-1,93	0,0016 1
Loxl1	lysyl oxidase-like 1	-2,37	0,0005 4	-1,95	0,0011 9	-1,90	0,0014 0
Plxdc2	plexin domain containing 2	-1,87	0,0016 0	-1,82	0,0011 3	-1,90	0,0006 5
Cyp2c12	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 12	-2,03	0,0196 0	-1,29	0,2870 9	-1,90	0,0087 6
Pctp	phosphatidylcholine transfer protein	-1,77	0,0000 8	-1,62	0,0007 3	-1,88	0,0000 3
RGD1306739	similar to RIKEN cDNA 1700040L02	-2,65	0,0000 0	-1,20	0,0513 0	-1,88	0,0003 6
Mmp27	matrix metalloproteinase 27	-4,80	0,0000 0	-1,91	0,0021 7	-1,85	0,0003 8
Gria3	glutamate receptor, ionotropic, AMPA 3	-1,52	0,1028 3	-1,27	0,2748 0	-1,85	0,0345 1
Cd46	CD46 molecule, complement regulatory protein	-1,64	0,0254 1	-1,32	0,0670 6	-1,83	0,0179 5
Sgcb	sarcoglycan, beta	-2,64	0,0009 7	-1,45	0,1417 4	-1,82	0,0353 5
LOC689800	similar to osteoclast inhibitory lectin	-1,63	0,0141 1	-1,37	0,0882 3	-1,82	0,0017 5
Plod2	procollagen lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2	-2,18	0,0006 6	-1,78	0,0009 4	-1,82	0,0013 1
Slc16a6	solute carrier family 16, member 6	-1,48	0,0918 4	-1,84	0,0208 9	-1,81	0,0219 3
Commd6	COMM domain containing 6	-1,61	0,0143 2	-1,40	0,0287 8	-1,81	0,0003 2
Acacb	acetyl-CoA carboxylase beta	-1,47	0,0201 5	-1,38	0,0040 4	-1,80	0,0001 9
Ddhd1	DDHD domain containing 1	1,17	0,5144 5	-1,38	0,2979 7	-1,80	0,0329 1
Fbn1	fibrillin 1	-2,38	0,0001 5	-1,74	0,0000 5	-1,79	0,0000 0
Adamts2	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 2	-2,16	0,0000 9	-1,66	0,0000 0	-1,79	0,0000 3
Me1	malic enzyme 1, NADP(+)-dependent, cytosolic	-1,38	0,1195 4	-1,37	0,1646 3	-1,79	0,0238 0
Col12a1	collagen, type XII, alpha 1	-1,75	0,0046 7	-1,50	0,0000 5	-1,77	0,0000 7
Bicc1	BicC family RNA binding protein 1	-1,78	0,0120 3	-1,88	0,0007 6	-1,77	0,0018 6
Mfsd2a	major facilitator superfamily domain containing 2A	-2,65	0,0010 2	-1,08	0,7349 3	-1,73	0,0240 4
Ccdc141	coiled-coil domain containing 141	-3,25	0,0000 4	-1,37	0,0387 6	-1,73	0,0196 0

Anhang Microarray-Daten

Fdps	farnesyl diphosphate synthase	-1,60	0,0008	-1,30	0,0165	-1,73	0,0012
			0		9		7
Wfdc21	WAP four-disulfide core domain 21	-3,61	0,0000	-1,49	0,0010	-1,72	0,0071
			1		1		5
Pla2g16	phospholipase A2, group XVI	-1,58	0,0018	-1,50	0,0035	-1,72	0,0013
			8		0		1
Kif1b	kinesin family member 1B	-2,18	0,0002	-1,39	0,1108	-1,72	0,0023
			2		3		8
Sntb1	syntrophin, beta 1	-2,49	0,0004	-1,50	0,0366	-1,71	0,0125
			0		7		9
Cdk14	cyclin-dependent kinase 14	-1,77	0,0020	-1,38	0,0335	-1,71	0,0062
			7		3		7
C7	complement component 7	1,02	0,9526	-1,39	0,0423	-1,70	0,0068
			8		5		3
Cyp4f39	cytochrome P450, family 4, subfamily f, polypeptide 39	1,95	0,0001	-1,14	0,1506	-1,70	0,0003
			0		8		5
Mgp	matrix Gla protein	-1,38	0,2198	-1,80	0,0012	-1,69	0,0114
			1		0		7
Igfn1	immunoglobulin-like and fibronectin type III domain containing 1	-1,95	0,0000	-1,42	0,0029	-1,69	0,0002
			7		0		3
LOC103690327	disks large homolog 5-like	-1,38	0,2027	-1,36	0,2159	-1,69	0,0312
			3		3		9
Tmsb10	thymosin, beta 10	-2,00	0,0088	-1,63	0,0410	-1,69	0,0255
			6		1		1
Anxa13	annexin A13	-1,68	0,0182	-1,69	0,0042	-1,68	0,0068
			7		1		6
Sqle	squalene epoxidase	-3,31	0,0000	-1,27	0,0608	-1,68	0,0045
			1		6		1
Tmem30b	transmembrane protein 30B	-1,63	0,0127	-1,22	0,0515	-1,67	0,0001
			4		1		6
Ltb	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)	-2,06	0,0046	-1,55	0,0483	-1,67	0,0145
			4		3		1
Ogn	osteoglycin	-1,56	0,0027	-1,52	0,0000	-1,66	0,0000
			9		4		3
Esam	endothelial cell adhesion molecule	-1,76	0,0081	-1,25	0,2703	-1,66	0,0135
			7		0		0
Acot2	acyl-CoA thioesterase 2	-1,66	0,0003	-1,39	0,0252	-1,66	0,0003
			0		9		4
Adamts12	ADAMTS-like 2	-2,33	0,0000	-1,66	0,0005	-1,66	0,0008
			7		9		3
Col1a2	collagen, type I, alpha 2	-1,94	0,0018	-1,69	0,0000	-1,65	0,0001
			5		0		1
Dhcr7	7-dehydrocholesterol reductase	-2,11	0,0000	-1,12	0,2507	-1,64	0,0059
			4		7		8
Aig1	androgen-induced 1	-2,25	0,0000	-1,34	0,0086	-1,64	0,0002
			4		6		3
Pdgfrb	platelet derived growth factor receptor, beta polypeptide	-1,52	0,0007	-1,34	0,0010	-1,64	0,0002
			8		5		5
Art4	ADP-ribosyltransferase 4	-1,57	0,0008	-1,43	0,0007	-1,64	0,0011
			1		5		5
Cystm1	cysteine-rich transmembrane module containing 1	-1,86	0,0006	-1,40	0,0008	-1,63	0,0001
			0		8		0
Hpgd	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15 (NAD)	-1,36	0,0090	-1,54	0,0027	-1,63	0,0054
			3		9		4
Lss	lanosterol synthase (2,3-oxidosqualene-lanosterol cyclase)	-1,68	0,0019	-1,28	0,0823	-1,62	0,0109
			2		9		3
Myh10	myosin, heavy chain 10, non-muscle	-2,13	0,0016	-1,54	0,0434	-1,62	0,0202
			3		6		2
Vim	vimentin	-1,43	0,0421	-1,54	0,0000	-1,62	0,0002
			9		8		1
Prrg4	proline rich Gla (G-carboxyglutamic acid) 4 (transmembrane)	-1,48	0,0355	-1,67	0,0026	-1,62	0,0022
			2		4		5
Cx3cl1	chemokine (C-X3-C motif) ligand 1	-1,47	0,0875	-1,54	0,0196	-1,61	0,0141
			4		7		4
Dapk1	death associated protein kinase 1	-1,17	0,3446	-1,42	0,1082	-1,61	0,0259
			3		1		8
Hebp2	heme binding protein 2	-2,65	0,0000	-1,33	0,0236	-1,61	0,0044
			4		9		1

Anhang Microarray-Daten

Gca	grancalcin	-2,88	0,0000	-1,39	0,0071	-1,61	0,0063
			1		8		9
Ces2c	carboxylesterase 2C	-4,14	0,0001	-1,45	0,1032	-1,61	0,0467
			0		4		8
LOC685716	similar to OX-2 membrane glycoprotein precursor (MRC OX-2 antigen) (CD200 antigen)	-1,70	0,0007	-1,63	0,0014	-1,61	0,0040
			9		7		9
Lpcat3	lysophosphatidylcholine acyltransferase 3	-1,12	0,0767	-1,26	0,0210	-1,60	0,0000
			3		3		5
Fbln5	fibulin 5	-1,83	0,0004	-1,44	0,0042	-1,60	0,0006
			2		2		5
Acot3	acyl-CoA thioesterase 3	-1,62	0,0003	-1,51	0,0001	-1,60	0,0003
			6		2		7
Ptprt	protein tyrosine phosphatase, receptor type, T	-1,52	0,0377	-1,48	0,0897	-1,60	0,0250
			9		5		7
Myadm	myeloid-associated differentiation marker	-2,63	0,0007	-1,27	0,2199	-1,60	0,0450
			9		7		8
Tmem14a	transmembrane protein 14A	-2,07	0,0022	-1,44	0,0242	-1,59	0,0095
			3		5		8
Cygb	cytoglobin	-2,50	0,0000	-1,50	0,0080	-1,59	0,0024
			3		3		6
Tm7sf2	transmembrane 7 superfamily member 2	-1,71	0,0259	-1,38	0,0794	-1,59	0,0333
			0		0		1
Vnn1	vanin 1	-1,98	0,0029	-1,41	0,0370	-1,59	0,0276
			1		1		7
Tlcd1	TLC domain containing 1	-1,99	0,0002	-1,30	0,0061	-1,59	0,0030
			6		8		6
Cd36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	-5,38	0,0000	-1,44	0,0008	-1,59	0,0001
			1		8		8
Apobec1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	-1,09	0,5489	-1,15	0,3131	-1,59	0,0103
			5		2		0
Cyp51	cytochrome P450, family 51	-1,33	0,0442	-1,24	0,0376	-1,59	0,0034
			2		4		2
Spp1	secreted phosphoprotein 1	-1,81	0,1448	-1,66	0,0255	-1,59	0,0312
			9		0		6
Dpysl2	dihydropyrimidinase-like 2	-2,01	0,0011	-1,49	0,0108	-1,59	0,0108
			7		9		5
Bcl2	B-cell CLL/lymphoma 2	-1,81	0,0009	-1,26	0,2031	-1,59	0,0199
			7		1		0
Pkia	protein kinase (cAMP-dependent, catalytic) inhibitor alpha	-2,08	0,0013	-1,57	0,0134	-1,58	0,0092
			7		2		0
P2ry2	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 2	-2,71	0,0000	-1,25	0,0894	-1,58	0,0016
			1		5		2
Ccdc141	coiled-coil domain containing 141	-3,22	0,0000	-1,31	0,0325	-1,58	0,0182
			0		7		4
Cyr61	cysteine-rich, angiogenic inducer, 61	-2,45	0,0010	-1,51	0,0101	-1,57	0,0114
			1		3		2
Pdp2	pyruvate dehydrogenase phosphatase catalytic subunit 2	-1,23	0,0716	-1,28	0,0190	-1,57	0,0026
			7		1		0
LOC314492	immunoglobulin heavy chain variable region	-1,27	0,0004	-1,13	0,4946	-1,57	0,0040
			1		7		2
Btg3	BTG family, member 3	-1,76	0,0011	-1,30	0,0111	-1,56	0,0017
			5		4		7
Rnd1	Rho family GTPase 1	-2,04	0,0041	-1,27	0,2353	-1,56	0,0472
			2		7		1
Anxa2	annexin A2	-4,37	0,0000	-1,50	0,0457	-1,56	0,0420
			6		4		5
Cxadr	coxsackie virus and adenovirus receptor	-1,78	0,0021	-1,14	0,1965	-1,56	0,0054
			7		5		7
Gbp4	guanylate binding protein 4	-1,38	0,1102	-1,22	0,3575	-1,56	0,0371
			7		4		6
Ltbp1	latent transforming growth factor beta binding protein 1	-1,96	0,0002	-1,51	0,0001	-1,56	0,0000
			3		2		9
Map4k4	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4	-1,13	0,2032	-1,31	0,0598	-1,56	0,0032
			5		6		9
Zfp3612	zinc finger protein 36, C3H type-like 2	-1,71	0,0015	-1,46	0,0160	-1,55	0,0008
			3		8		9
Ngfrap1	nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1	-1,66	0,0015	-1,44	0,0100	-1,55	0,0034
			5		8		1

Anhang Microarray-Daten

Rgs4	regulator of G-protein signaling 4	-1,81	0,0025 4	-1,34	0,1693 0	-1,55	0,0066 3
Tgfb2	transforming growth factor, beta 2	-1,42	0,0182 4	-1,45	0,0114 3	-1,55	0,0165 5
Plat	plasminogen activator, tissue	-1,45	0,0085 0	-1,41	0,0065 5	-1,54	0,0013 7
Cxcl9	chemokine (C-X-C motif) ligand 9	1,06	0,7137 0	-1,57	0,0087 2	-1,54	0,0235 8
Rtn4	reticulon 4	-4,45	0,0001 1	-1,27	0,1632 2	-1,54	0,0288 7
Tagln2	transgelin 2	-1,58	0,0230 6	-1,43	0,0111 3	-1,54	0,0225 2
RGD1560242	similar to RIKEN cDNA 1700028P14	-2,29	0,0000 3	-1,13	0,2667 8	-1,54	0,0015 4
Vwf	von Willebrand factor	-2,07	0,0002 2	-1,57	0,0002 2	-1,54	0,0001 8
Tlcd2	TLC domain containing 2	-1,64	0,0021 0	-1,28	0,1187 3	-1,53	0,0165 5
LOC10369008 2	calcium-dependent secretion activator 1-like	-1,70	0,0163 8	-1,33	0,2321 8	-1,53	0,0492 5
LOC685767	similar to OX-2 membrane glycoprotein precursor (MRC OX-2 antigen) (CD200 antigen)	1,13	0,4197 6	-1,47	0,0144 3	-1,53	0,0110 7
Cxcl6	chemokine (C-X-C motif) ligand 6	-1,43	0,1332 7	-1,47	0,0602 4	-1,53	0,0369 5
Acss2	acyl-CoA synthetase short-chain family member 2	-1,95	0,0004 6	-1,22	0,1514 4	-1,53	0,0158 8
Sema5a	sema domain, seven thrombospondin repeats (type 1 and type 1-like), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 5A	-1,69	0,0019 7	-1,52	0,0054 3	-1,53	0,0030 0
Rerg	RAS-like, estrogen-regulated, growth- inhibitor	-1,67	0,0013 9	-1,41	0,0021 5	-1,52	0,0008 8
Fhl1	four and a half LIM domains 1	-1,73	0,0040 7	-1,41	0,0051 9	-1,52	0,0013 4
Rgs5	regulator of G-protein signaling 5	-3,08	0,0004 2	-1,46	0,0006 7	-1,52	0,0000 0
Spint1	serine peptidase inhibitor, Kunitz type 1	-1,47	0,0760 9	-1,36	0,1267 2	-1,52	0,0310 7
Olr820	olfactory receptor 820	-1,33	0,1514 1	-1,47	0,0441 7	-1,52	0,0356 8
Hmgcs1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1 (soluble)	-1,50	0,0008 1	-1,18	0,0256 0	-1,52	0,0000 7
Gpam	glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial	-2,38	0,0001 3	-1,25	0,2311 9	-1,52	0,0173 6
Klhl13	kelch-like family member 13	-1,56	0,0023 8	-1,33	0,0647 2	-1,52	0,0095 1
Slc39a4	solute carrier family 39 (zinc transporter), member 4	-1,29	0,0678 3	-1,26	0,1188 1	-1,52	0,0129 1
LOC10255181 9	U3 small nucleolar RNA-associated protein 14 homolog B-like	-1,60	0,0054 7	-1,15	0,2704 9	-1,51	0,0118 6
Rbm3	RNA binding motif (RNP1, RRM) protein 3	-1,60	0,0049 1	-1,38	0,0517 9	-1,51	0,0107 6
Pmvk	phosphomevalonate kinase	-1,26	0,0748 8	-1,33	0,0732 8	-1,51	0,0173 0
Igfbp3	insulin-like growth factor binding protein 3	-1,26	0,1586 7	-1,43	0,0039 9	-1,51	0,0032 6
Emp2	epithelial membrane protein 2	-1,86	0,0021 0	-1,48	0,0022 7	-1,51	0,0061 5
Dcakd	dephospho-CoA kinase domain containing	-2,26	0,0001 3	-1,29	0,1149 5	-1,51	0,0154 7
Timp2	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	-1,43	0,0071 0	-1,48	0,0000 6	-1,51	0,0001 2
Plekhd1	pleckstrin homology domain containing, family D (with coiled-coil domains) member 1	-1,52	0,0131 3	-1,43	0,0627 5	-1,50	0,0171 0
Hes6	hes family bHLH transcription factor 6	-1,93	0,0006 3	-1,29	0,0456 8	-1,50	0,0006 1

Anhang Microarray-Daten

Parvb	parvin, beta	-1,69	0,0021	-1,18	0,1784	-1,50	0,0161
			6		2		8
LOC683430	similar to potassium channel tetramerisation domain containing 12b	-1,26	0,0617	-1,26	0,0064	-1,50	0,0160
			7		2		7
Pde5a	phosphodiesterase 5A, cGMP-specific	-1,94	0,0001	-1,10	0,4083	-1,50	0,0189
			8		9		9
Col14a1	collagen, type XIV, alpha 1	-1,63	0,0014	-1,30	0,0043	-1,49	0,0000
			0		8		8
LOC10255511	disks large homolog 5-like	1,08	0,5091	-1,29	0,1205	-1,49	0,0408
4			9		5		2
Cd24	CD24 molecule	-1,39	0,0435	-1,56	0,0008	-1,49	0,0025
			8		3		5
Gpx3	glutathione peroxidase 3	-1,63	0,0083	-1,58	0,0003	-1,49	0,0003
			5		5		8
Rab30	RAB30, member RAS oncogene family	-1,55	0,0121	-1,50	0,0321	-1,49	0,0182
			1		7		5
Chst9	carbohydrate (N-acetylgalactosamine 4-0) sulfotransferase 9	-2,31	0,0000	-1,13	0,0697	-1,48	0,0101
			0		9		3
Abcc9	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP), member 9	-1,80	0,0000	-1,34	0,0286	-1,48	0,0016
			4		4		1
S100a6	S100 calcium binding protein A6	-1,24	0,1671	-1,42	0,0188	-1,47	0,0016
			9		1		1
Mfge8	milk fat globule-EGF factor 8 protein	-1,74	0,0003	-1,28	0,0403	-1,47	0,0071
			5		4		8
Ebpl	emopamil binding protein-like	-1,47	0,0034	-1,23	0,0336	-1,47	0,0007
			3		3		4
Gpr39	G protein-coupled receptor 39	-1,19	0,0157	-1,25	0,0064	-1,47	0,0094
			9		2		8
Msln	mesothelin	-1,24	0,2010	-1,32	0,0329	-1,47	0,0078
			2		0		0
Acly	ATP citrate lyase	-1,33	0,0109	-1,16	0,2793	-1,47	0,0018
			8		8		4
Lbh	limb bud and heart development	-1,80	0,0002	-1,22	0,1644	-1,47	0,0082
			3		2		0
Jund	jun D proto-oncogene	-1,38	0,0130	-1,21	0,0013	-1,47	0,0000
			3		5		1
Serpine2	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 2	-1,25	0,0206	-1,51	0,0001	-1,46	0,0000
			2		7		6
RGD1560455	similar to RIKEN cDNA A630033H20 gene	-1,11	0,2498	-1,14	0,4106	-1,46	0,0066
			9		0		8
Cng2	cyclin G2	-1,14	0,2955	-1,32	0,0378	-1,46	0,0056
			6		0		2
Elov11	ELOVL fatty acid elongase 1	-1,29	0,0064	-1,24	0,0072	-1,46	0,0047
			6		4		4
Ch25h	cholesterol 25-hydroxylase	-1,78	0,0012	-1,18	0,1656	-1,46	0,0260
			1		2		1
Fat1	FAT atypical cadherin 1	-1,19	0,1030	-1,24	0,0291	-1,46	0,0097
			2		4		6
Col8a1	collagen, type VIII, alpha 1	-1,36	0,0741	-1,35	0,0131	-1,45	0,0285
			5		1		3
Msmo1	methylsterol monooxygenase 1	-1,87	0,0055	-1,20	0,1182	-1,45	0,0055
			2		1		3
Cyp2c24	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 24	-1,54	0,0518	-1,41	0,0838	-1,45	0,0333
			0		2		2
Acot5	acyl-CoA thioesterase 5	1,70	0,0146	-1,08	0,5142	-1,45	0,0107
			3		2		3
Tmem45al	transmembrane protein 45A-like	-1,31	0,0188	-1,29	0,0093	-1,45	0,0027
			8		1		9
RGD1310769	similar to HSPC288	-1,35	0,0068	-1,16	0,1624	-1,45	0,0071
			8		8		4
Mir26b	microRNA 26b	-1,13	0,2465	-1,31	0,0588	-1,45	0,0303
			8		3		8
Sc5d	sterol-C5-desaturase	-1,14	0,1035	-1,21	0,0061	-1,45	0,0001
			2		8		1
Csf1	colony stimulating factor 1 (macrophage)	-1,45	0,0067	-1,21	0,0579	-1,45	0,0037
			2		7		5
Tspan8	tetraspanin 8	-1,14	0,5824	-1,40	0,0353	-1,45	0,0047
			0		0		2

Anhang Microarray-Daten

Atp8a1	ATPase, aminophospholipid transporter (APLT), class I, type 8A, member 1	-2,41	0,0000 4	-1,05	0,7099 5	-1,45	0,0090 0
Sparcl1	SPARC-like 1 (hevin)	-2,01	0,0004 7	-1,48	0,0001 6	-1,45	0,0005 4
S100a10	S100 calcium binding protein A10	-1,98	0,0102 5	-1,47	0,0815 1	-1,45	0,0485 3
Rhob	ras homolog family member B	-2,09	0,0001 0	-1,23	0,0565 0	-1,44	0,0266 5
LOC691044	similar to GTPase activating protein testicular GAP1	-1,00	0,9873 3	-1,13	0,4403 4	-1,44	0,0358 1
Pkhd1l1	polycystic kidney and hepatic disease 1-like 1	-1,46	0,0164 3	-1,40	0,0023 1	-1,44	0,0030 3
Epha4	Eph receptor A4	-1,22	0,0212 6	-1,34	0,0021 7	-1,44	0,0045 6
Cldn6	claudin 6	-1,25	0,1611 6	-1,34	0,0509 5	-1,44	0,0200 4
Abhd1	abhydrolase domain containing 1	-1,14	0,4052 0	-1,23	0,3509 6	-1,44	0,0413 7
Plin2	perilipin 2	-1,42	0,0002 9	-1,18	0,0674 5	-1,44	0,0007 4
Slc25a4	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 4	-1,60	0,0046 5	-1,42	0,0060 6	-1,44	0,0043 5
Gnptab	N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase, alpha and beta subunits	-1,65	0,0000 1	-1,40	0,0017 8	-1,44	0,0015 7
Abcc9	ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/MRP), member 9	-1,67	0,0007 0	-1,37	0,1083 3	-1,44	0,0003 0
LOC501467	similar to spermatogenesis associated glutamate (E)-rich protein 4d	-1,17	0,3199 3	-1,18	0,1898 1	-1,43	0,0246 0
Aoc3	amine oxidase, copper containing 3	-1,31	0,1845 6	-1,28	0,1353 5	-1,43	0,0446 6
Secisbp2l	SECIS binding protein 2-like	-1,65	0,0016 9	-1,18	0,0104 8	-1,43	0,0000 6
Agpat3	1-acylglycerol-3-phosphate acyltransferase 3	-1,53	0,0000 0	-1,11	0,0484 9	-1,43	0,0000 0
Serpib9	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9	-1,60	0,0038 3	-1,18	0,2191 4	-1,43	0,0218 1
Ttc24	tetratricopeptide repeat domain 24	-1,87	0,0066 9	-1,13	0,4601 6	-1,43	0,0243 9
Stau2	staufen double-stranded RNA binding protein 2	-1,92	0,0009 7	-1,15	0,3628 4	-1,43	0,0166 6
Anxa1	annexin A1	-1,49	0,0439 4	-1,33	0,0013 4	-1,43	0,0100 6
Fgfr2	fibroblast growth factor receptor 2	-1,17	0,0222 5	-1,14	0,0380 3	-1,43	0,0007 1
Bex4	brain expressed, X-linked 4	-1,48	0,0705 8	-1,90	0,0053 5	-1,43	0,0440 7
Smoc2	SPARC related modular calcium binding 2	-1,36	0,0336 9	-1,55	0,0012 4	-1,43	0,0064 2
Tmc4	transmembrane channel-like 4	-1,35	0,1160 2	-1,53	0,0017 8	-1,43	0,0020 0
Adcy10	adenylate cyclase 10 (soluble)	-1,17	0,0640 8	-1,17	0,0681 9	-1,43	0,0008 9
Lgals1	lectin, galactoside-binding, soluble, 1	-1,36	0,0133 6	-1,33	0,0035 5	-1,42	0,0002 8
Thbs2	thrombospondin 2	-1,56	0,0003 3	-1,40	0,0013 0	-1,42	0,0010 9
Rfc4	replication factor C (activator 1) 4	-1,34	0,0154 1	-1,32	0,0486 4	-1,42	0,0066 4
Acot4	acyl-CoA thioesterase 4	-1,43	0,0001 9	-1,33	0,0049 0	-1,42	0,0006 1
Hsd12	hydroxysteroid dehydrogenase like 2	-1,68	0,0006 4	-1,31	0,0187 9	-1,42	0,0077 1
Ehf	ets homologous factor	-1,43	0,1409 1	-1,55	0,0063 1	-1,42	0,0041 4
Casc4	cancer susceptibility candidate 4	-1,66	0,0016 5	-1,46	0,0003 9	-1,42	0,0094 7

Anhang Microarray-Daten

Mir19b2	microRNA 19b-2	-1,30	0,0284 5	-1,10	0,3496 6	-1,42	0,0102 4
F2r	coagulation factor II (thrombin) receptor	-1,58	0,0021 5	-1,18	0,1150 2	-1,42	0,0148 4
App	amyloid beta (A4) precursor protein	-1,89	0,0005 5	-1,41	0,0053 4	-1,41	0,0144 5
Adamts5	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 5	1,47	0,1680 3	-1,34	0,0186 7	-1,41	0,0094 8
LOC102551823	transmembrane protein 92-like	-1,23	0,1395 0	-1,24	0,1496 8	-1,41	0,0225 0
Sparc	secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin)	-1,50	0,0008 7	-1,34	0,0005 9	-1,41	0,0015 8
Hmgb211	high mobility group box 2-like 1	-1,19	0,0814 1	-1,21	0,1256 3	-1,41	0,0140 3
Sult1c3	sulfotransferase family, cytosolic, 1C, member 3	2,75	0,0000 1	-1,44	0,0571 8	-1,41	0,0064 8
Pura	purine rich element binding protein A	-1,53	0,0029 8	-1,19	0,0724 3	-1,41	0,0003 8
Dsel	dermatan sulfate epimerase-like	-1,26	0,0296 8	-1,25	0,0100 2	-1,41	0,0109 9
Tjp3	tight junction protein 3	-1,41	0,0084 0	-1,24	0,0500 4	-1,41	0,0043 3
Tnfrsf9	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 9	-2,16	0,0001 0	-1,24	0,1980 6	-1,41	0,0063 6
Gpc6	glypican 6	-1,90	0,0035 3	-1,51	0,0000 2	-1,41	0,0023 9
Gadd45a	growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha	-3,22	0,0004 9	-1,47	0,0266 7	-1,41	0,0471 9
B4galt6	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 6	-1,76	0,0003 6	-1,15	0,2203 0	-1,41	0,0129 0
Micall2	MICAL-like 2	-1,47	0,0027 2	-1,36	0,0084 2	-1,40	0,0043 3
Tmem135	transmembrane protein 135	-1,13	0,2880 7	-1,06	0,4891 4	-1,40	0,0017 8
Itga8	integrin, alpha 8	-1,59	0,0004 6	-1,24	0,0091 8	-1,40	0,0000 8
Fads2	fatty acid desaturase 2	-1,29	0,0013 8	-1,19	0,0018 5	-1,40	0,0000 8
Reln	reelin	-1,67	0,0004 6	-1,31	0,0016 9	-1,40	0,0000 6
F11r	F11 receptor	-1,45	0,0047 7	-1,09	0,4614 4	-1,40	0,0056 4
RGD1561694	similar to High mobility group protein 2 (HMG-2) [Source:RGD Symbol;Acc:1561694]	-1,32	0,1636 7	-1,18	0,2518 2	-1,40	0,0397 5
Igsf10	immunoglobulin superfamily, member 10	-1,25	0,2752 1	-1,47	0,0046 6	-1,40	0,0053 2
Olfml1	olfactomedin-like 1	-1,31	0,0213 8	-1,25	0,0039 5	-1,40	0,0069 8
Krt19	keratin 19, type I	1,09	0,7084 2	-1,31	0,0323 7	-1,40	0,0046 0
Fdft1	farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1	-1,19	0,0715 4	-1,10	0,2649 9	-1,40	0,0074 4
Nid1	nidogen 1	-1,84	0,0005 0	-1,33	0,0014 2	-1,40	0,0001 5
Hmgn1	high mobility group nucleosome binding domain 1	-1,48	0,0010 9	-1,29	0,0069 4	-1,40	0,0063 6
Tyro3	TYRO3 protein tyrosine kinase	-1,43	0,0012 4	-1,15	0,2455 1	-1,40	0,0276 3
Pgpep1	pyroglutamyl-peptidase I	1,07	0,5255 7	-1,06	0,6276 3	-1,39	0,0079 9
Tmem252	transmembrane protein 252	1,10	0,2766 1	-1,04	0,6474 1	-1,39	0,0446 4
Mmp2	matrix metalloproteinase 2	-1,91	0,0013 5	-1,49	0,0025 1	-1,39	0,0140 3
Ltbp2	latent transforming growth factor beta binding protein 2	-1,47	0,0080 9	-1,51	0,0019 5	-1,39	0,0056 2
Adamts9	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 9	-1,13	0,1982 2	-1,19	0,0059 5	-1,39	0,0015 8

Anhang Microarray-Daten

Olr194	olfactory receptor 194	-1,30	0,1343 0	-1,06	0,7127 1	-1,39	0,0492 9
Capn5	calpain 5	-1,49	0,0015 7	-1,38	0,0169 2	-1,39	0,0051 5
Lamb1	laminin, beta 1	-1,33	0,0013 6	-1,36	0,0034 4	-1,39	0,0024 6
Hmcn1	hemicentin 1	-1,34	0,0077 4	-1,28	0,0012 1	-1,39	0,0000 2
Gas6	growth arrest specific 6	-1,78	0,0008 5	-1,16	0,2326 1	-1,39	0,0049 8
Kbtbd12	kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 12	-1,52	0,0061 6	-1,15	0,0391 1	-1,39	0,0016 6
Cd34	CD34 molecule	-1,18	0,1379 7	-1,45	0,0113 4	-1,39	0,0069 8
Zc2hc1a	zinc finger, C2HC-type containing 1A	-1,66	0,0013 9	-1,17	0,1881 9	-1,38	0,0255 0
Krt20	keratin 20, type I	-1,34	0,1265 8	-1,56	0,0040 5	-1,38	0,0176 9
Col3a1	collagen, type III, alpha 1	-1,58	0,0016 1	-1,35	0,0002 5	-1,38	0,0001 0
Ptges311	prostaglandin E synthase 3-like 1	-1,15	0,3902 0	-1,02	0,8793 6	-1,38	0,0416 0
Cpeb2	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2	-1,41	0,0060 9	-1,13	0,1887 3	-1,38	0,0095 4
Ihh	Indian hedgehog	-1,10	0,1319 9	-1,07	0,2246 5	-1,38	0,0018 7
Npdc1	neural proliferation, differentiation and control, 1	-1,54	0,0009 1	-1,36	0,0069 9	-1,38	0,0046 7
Plxna2	plexin A2	-1,31	0,0188 9	-1,20	0,0212 0	-1,38	0,0001 5
Adgrl4	adhesion G protein-coupled receptor L4	-1,42	0,0112 7	-1,40	0,0000 4	-1,38	0,0031 7
Loxl2	lysyl oxidase-like 2 [Source:RGD Symbol;Acc:1308435]	-1,47	0,0131 9	-1,44	0,0000 8	-1,38	0,0011 4
Raet11	retinoic acid early transcript 1L	1,05	0,6051 7	-1,07	0,4251 9	-1,38	0,0272 4
Olr1122	olfactory receptor 1122	-1,24	0,2298 6	-1,26	0,1203 6	-1,38	0,0467 6
Cdc42ep1	CDC42 effector protein (Rho GTPase binding) 1	-1,83	0,0005 3	-1,23	0,0381 1	-1,37	0,0093 5
Cep55	centrosomal protein 55	-1,47	0,0118 7	-1,22	0,0628 1	-1,37	0,0113 1
Hmgcl11	3-hydroxymethyl-3-methylglutaryl-CoA lyase-like 1	-1,25	0,0505 2	-1,32	0,0397 2	-1,37	0,0093 5
Mfhas1	malignant fibrous histiocytoma amplified sequence 1	-2,21	0,0000 2	-1,19	0,0410 8	-1,37	0,0073 0
Bgn	biglycan	-1,62	0,0002 4	-1,34	0,0001 5	-1,37	0,0009 7
Lrp2	low density lipoprotein receptor-related protein 2	-1,27	0,0015 0	-1,10	0,0779 9	-1,37	0,0013 8
Pmp22	peripheral myelin protein 22	-1,40	0,0022 6	-1,33	0,0027 1	-1,37	0,0036 6
Gpr34	G protein-coupled receptor 34	-1,59	0,0394 2	-1,24	0,2017 7	-1,37	0,0217 0
Epcam	epithelial cell adhesion molecule	-1,97	0,0019 6	-1,50	0,0006 9	-1,37	0,0061 7
Tshz3	teashirt zinc finger homeobox 3	-1,34	0,0187 0	-1,23	0,0903 2	-1,37	0,0199 9
Elov16	ELOVL fatty acid elongase 6	-2,80	0,0055 7	-1,28	0,1463 8	-1,37	0,0261 7
Sor11	sortilin-related receptor, LDLR class A repeats-containing	-1,07	0,5937 0	-1,22	0,1483 4	-1,37	0,0228 4
Arhgef9	Cdc42 guanine nucleotide exchange factor (GEF) 9	-1,67	0,0009 9	-1,22	0,0804 3	-1,37	0,0118 5
Dbi	diazepam binding inhibitor (GABA receptor modulator, acyl-CoA binding protein)	-1,22	0,0609 7	-1,25	0,0278 7	-1,37	0,0047 1
Eepd1	endonuclease/exonuclease/phosphatase family domain containing 1	-1,25	0,0330 3	-1,23	0,0830 4	-1,37	0,0053 6

Anhang Microarray-Daten

Idi1	isopentenyl-diphosphate isomerase 1	delta	-1,60	0,0007	-1,09	0,5506	-1,37	0,0443
				7		3		1
Hmgcr	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase		-2,22	0,0006	-1,17	0,0678	-1,37	0,0250
				8		7		6
Plekhg1	pleckstrin homology domain containing, family G (with RhoGef domain) member 1		-1,46	0,0022	-1,25	0,0134	-1,37	0,0085
				4		5		6
Sorcs2	sortilin-related VPS10 domain containing receptor 2		-1,87	0,0002	-1,31	0,0135	-1,37	0,0158
				1		0		0
Plet1	placenta expressed transcript 1		-1,02	0,9629	-1,57	0,0015	-1,37	0,0133
				3		8		0
Tgif1	TGFB-induced factor homeobox 1		-1,22	0,0623	-1,16	0,1420	-1,37	0,0207
				9		3		1
Col4a1	collagen, type IV, alpha 1		-1,61	0,0001	-1,33	0,0061	-1,36	0,0030
				0		7		2
Pcdh17	protocadherin 17		-1,49	0,0105	-1,36	0,0206	-1,36	0,0096
				3		0		0
Efemp2	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2		-1,30	0,0041	-1,29	0,0016	-1,36	0,0006
				1		1		3
Rab31	RAB31, member RAS oncogene family		-1,45	0,0195	-1,29	0,0349	-1,36	0,0275
				8		9		7
Klra1	killer cell lectin-like receptor, subfamily A, member 1		-1,66	0,0007	-1,19	0,1618	-1,36	0,0480
				7		9		3
Rbp7	retinol binding protein 7, cellular		-1,58	0,0000	-1,39	0,0000	-1,36	0,0025
				1		0		6
Chn3	chimerin 3 [Source:RGD Symbol;Acc:1559751]		-1,23	0,1659	-1,18	0,2816	-1,36	0,0268
				7		9		6
Akr1c19	aldo-keto reductase family 1, member C19		-1,36	0,0043	-1,12	0,4772	-1,36	0,0021
				2		8		0
Mxra8	matrix-remodelling associated 8		-1,87	0,0010	-1,36	0,0001	-1,36	0,0034
				1		7		4
Sgol2	shugoshin-like 2 (S. pombe)		-1,45	0,0034	-1,13	0,4190	-1,36	0,0274
				3		5		4
LOC10255292	armadillo repeat-containing X-linked protein 5-like		-1,37	0,0029	-1,18	0,1326	-1,35	0,0045
				4		5		3
Nov	nephroblastoma overexpressed		-1,33	0,0286	-1,28	0,0425	-1,35	0,0206
				7		0		0
Antxr1	anthrax toxin receptor 1		-1,70	0,0015	-1,33	0,0006	-1,35	0,0006
				6		5		0
Casp3	caspase 3		-1,44	0,0002	-1,22	0,0089	-1,35	0,0004
				6		1		7
Pcsk9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9		-1,44	0,0534	-1,12	0,3467	-1,35	0,0200
				0		9		2
Selm	selenoprotein M		-1,49	0,0008	-1,38	0,0034	-1,35	0,0032
				1		6		5
Prelp	proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein		-1,39	0,0223	-1,29	0,0075	-1,35	0,0031
				3		3		3
Tspan2	tetraspanin 2		-1,23	0,0245	-1,18	0,0416	-1,35	0,0026
				0		4		5
Ecsr	endothelial cell surface expressed chemotaxis and apoptosis regulator		-1,51	0,0000	-1,33	0,0037	-1,35	0,0012
				4		6		8
Homez	homeobox and leucine zipper encoding		-1,15	0,1291	-1,16	0,2108	-1,35	0,0051
				4		1		5
Olr113	olfactory receptor 113		-1,24	0,0700	-1,24	0,0559	-1,35	0,0124
				2		0		7
Il17rb	interleukin 17 receptor B		-2,55	0,0019	-1,08	0,5002	-1,35	0,0350
				3		3		5
Flna	filamin A, alpha		-1,48	0,0219	-1,40	0,0037	-1,35	0,0175
				0		4		7
Dram1	DNA-damage regulated autophagy modulator 1		-1,29	0,0510	-1,27	0,0274	-1,35	0,0190
				2		2		9
Eci1	enoyl-CoA delta isomerase 1		-1,74	0,0003	-1,40	0,0303	-1,35	0,0050
				9		2		9
LOC682330	similar to histone 1, H2ai		-1,37	0,0261	-1,12	0,1893	-1,35	0,0366
				0		6		2
Flrt3	fibronectin leucine rich transmembrane protein 3		-1,37	0,0050	-1,31	0,0032	-1,35	0,0081
				6		2		0
Tjp1	tight junction protein 1		-1,03	0,7137	-1,13	0,0343	-1,34	0,0007
				2		1		4

Anhang Microarray-Daten

Slc39a10	solute carrier family 39 (zinc transporter), member 10	-1,68	0,0005	-1,21	0,0703	-1,34	0,0141
			6		0		1
Calm2	calmodulin 2	-1,74	0,0002	-1,15	0,1142	-1,34	0,0045
			1		8		4
Cpz	carboxypeptidase Z	-1,71	0,0003	-1,31	0,0136	-1,34	0,0057
			9		4		7
Frzb	frizzled-related protein	-2,11	0,0007	-1,43	0,0004	-1,34	0,0008
			1		3		5
Tle3	transducin-like enhancer of split 3	-1,17	0,0230	-1,22	0,0001	-1,34	0,0003
			7		4		3
Cemip	cell migration inducing protein, hyaluronan binding	-2,50	0,0000	-1,31	0,0311	-1,34	0,0429
			2		1		3
Nckap5	NCK-associated protein 5	-1,42	0,0055	-1,15	0,3128	-1,34	0,0128
			3		1		9
Sepn1	selenoprotein N, 1	-1,44	0,0026	-1,27	0,0251	-1,34	0,0137
			1		9		4
Cks2	CDC28 protein kinase regulatory subunit 2	-1,32	0,0879	-1,14	0,2470	-1,34	0,0359
			0		3		3
Col4a2	collagen, type IV, alpha 2	-1,33	0,0011	-1,22	0,0037	-1,34	0,0011
			8		1		5
Actg1	actin, gamma 1	-1,63	0,0000	-1,16	0,0914	-1,34	0,0128
			9		7		5
Pxdn	peroxidasin homolog (Drosophila)	-1,43	0,0003	-1,26	0,0010	-1,34	0,0000
			4		7		4
Rcn3	reticulocalbin 3, EF-hand calcium binding domain	-1,39	0,0036	-1,19	0,0177	-1,34	0,0001
			1		4		4
Abcd3	ATP-binding cassette, subfamily D (ALD), member 3	-1,35	0,0017	-1,22	0,0168	-1,34	0,0000
			5		0		0
Dynlt3	dynein light chain Tctex-type 3	-1,22	0,0310	-1,18	0,0350	-1,34	0,0284
			4		1		3
Kcne3	potassium channel, voltage-gated Isk-related subfamily E regulatory beta subunit 3	-1,31	0,0127	-1,16	0,0503	-1,34	0,0007
			9		4		3
Sh3bp4	SH3-domain binding protein 4	-1,63	0,0004	-1,22	0,0645	-1,33	0,0068
			5		6		9
Gulp1	GULP, engulfment adaptor PTB domain containing 1	-1,22	0,0194	-1,23	0,0065	-1,33	0,0042
			9		1		2
CB741658	CB741658 gene	1,02	0,8518	-1,04	0,7304	-1,33	0,0124
			8		7		5
Tubb3	tubulin, beta 3 class III	-1,41	0,0038	-1,26	0,0110	-1,33	0,0424
			7		7		8
Pde8b	phosphodiesterase 8B	-2,11	0,0002	-1,21	0,0294	-1,33	0,0283
			8		7		4
Enpp5	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 5	-2,11	0,0000	-1,20	0,0461	-1,33	0,0341
			4		3		7
RGD1566289	similar to probable nocturnin protein	-1,15	0,3459	-1,27	0,1004	-1,33	0,0417
			3		4		0
Efna1	ephrin A1	1,28	0,0023	-1,09	0,3430	-1,33	0,0011
			2		6		8
Cachd1	cache domain containing 1	-1,26	0,0180	-1,25	0,0262	-1,33	0,0147
			0		1		2
Tmem2	transmembrane protein 2	-1,42	0,0002	-1,09	0,1245	-1,33	0,0125
			9		5		1
Ier5	immediate early response 5	-1,18	0,1599	-1,09	0,3344	-1,33	0,0148
			3		4		1
Bmp4	bone morphogenetic protein 4	-1,55	0,0002	-1,18	0,1958	-1,33	0,0043
			8		5		3
Spry1	sprouty RTK signaling antagonist 1	-1,31	0,0038	-1,34	0,0016	-1,33	0,0022
			4		6		6
Ribc2	RIB43A domain with coiled-coils 2	-1,11	0,2972	-1,14	0,1601	-1,33	0,0322
			5		6		5
Rasl12	RAS-like, family 12	-1,18	0,0738	-1,19	0,0326	-1,33	0,0052
			6		3		2
Fam83h	family with sequence similarity 83, member H	-1,45	0,0019	-1,13	0,0908	-1,33	0,0023
			3		8		7
Zmiz1	zinc finger, MIZ-type containing 1	-1,21	0,0193	-1,23	0,0187	-1,33	0,0065
			7		6		4
Tgfbli1	transforming growth factor beta 1 induced transcript 1	-1,31	0,0179	-1,20	0,1812	-1,33	0,0156
			1		8		9

Anhang Microarray-Daten

Lipa	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	-1,05	0,54099	-1,20	0,07492	-1,33	0,01199
Pdha1	pyruvate dehydrogenase (lipoamide) alpha 1	-1,06	0,38556	-1,06	0,36522	-1,33	0,00317
Rap2c	RAP2C, member of RAS oncogene family	-1,10	0,35738	-1,06	0,46005	-1,33	0,01475
Cds1	CDP-diacylglycerol synthase 1	-1,15	0,12012	-1,28	0,00488	-1,32	0,01414
Igfbp7	insulin-like growth factor binding protein 7	-1,42	0,00066	-1,28	0,00236	-1,32	0,00014
Kirrel	kin of IRRE like (Drosophila)	-1,12	0,06527	-1,19	0,02747	-1,32	0,00307
Asah2	N-acylsphingosine amidohydrolase (non-lysosomal ceramidase) 2	-2,11	0,00001	-1,18	0,04386	-1,32	0,01957
Actg1	actin, gamma 1	-1,62	0,00012	-1,16	0,07576	-1,32	0,02327
Frmd4a	FERM domain containing 4A	-1,42	0,02185	-1,22	0,08340	-1,32	0,03670
Gem	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle	-1,44	0,01215	-1,18	0,21717	-1,32	0,04193
Pde1a	phosphodiesterase 1A, calmodulin-dependent	-1,39	0,03552	-1,36	0,00299	-1,32	0,00082
Eps8	epidermal growth factor receptor pathway substrate 8	-1,50	0,00035	-1,27	0,00047	-1,32	0,00092
Ankrd34c	ankyrin repeat domain 34C	-1,01	0,91590	-1,10	0,22223	-1,32	0,01220
Sema6a	sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6A	-1,49	0,00527	-1,23	0,04756	-1,32	0,03143
Pygo1	pygopus family PHD finger 1	1,02	0,77120	-1,18	0,01057	-1,32	0,00340
Ahnak	AHNAK nucleoprotein	-1,43	0,05491	-1,27	0,00189	-1,32	0,00090
Syt12	synaptotagmin-like 2	-1,32	0,00175	-1,25	0,00567	-1,32	0,00167
Slc43a2	solute carrier family 43 (amino acid system L transporter), member 2	-1,48	0,00354	-1,24	0,04004	-1,32	0,02372
RT1-A1	RT1 class Ia, locus A1	-1,22	0,04683	-1,25	0,01046	-1,32	0,00831
Necab1	N-terminal EF-hand calcium binding protein 1	-1,50	0,00485	-1,27	0,02662	-1,32	0,00326
LOC100360432	RNA-binding region containing protein 2-like [Source:RGD Symbol;Acc:2322124]	-1,04	0,76165	-1,02	0,80983	-1,32	0,04993
Brinp1	bone morphogenetic protein/retinoic acid inducible neural-specific 1	-1,60	0,00575	-1,25	0,04997	-1,32	0,02279
Slc16a1	solute carrier family 16 (monocarboxylate transporter), member 1	1,06	0,42976	-1,06	0,48466	-1,32	0,01960
Sema4a	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4A	-1,12	0,03780	-1,25	0,00350	-1,32	0,00645
Myo7b	myosin VIIb	-1,94	0,00003	-1,26	0,00214	-1,32	0,01452
Inpp5d	inositol polyphosphate-5-phosphatase D	-1,21	0,04936	-1,18	0,02048	-1,32	0,01171
Bmp3	bone morphogenetic protein 3	-1,27	0,01768	-1,21	0,04447	-1,32	0,01246
Mastl	microtubule associated serine/threonine kinase-like	-1,35	0,00957	-1,07	0,58468	-1,32	0,01212
Fhl2	four and a half LIM domains 2	-1,45	0,01109	-1,19	0,12977	-1,32	0,00970
Ptprs	protein tyrosine phosphatase, receptor type, S	-1,51	0,00347	-1,11	0,27837	-1,31	0,01104
Tug1	taurine up-regulated 1 (non-protein coding)	-1,41	0,01150	-1,13	0,07587	-1,31	0,00647
Itm2c	integral membrane protein 2C	-1,24	0,02090	-1,25	0,00147	-1,31	0,00055

Pnrc1	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	1,11	0,31278	-1,12	0,37211	-1,31	0,03874
Egln1	egl-9 family hypoxia-inducible factor 1	-1,25	0,00721	-1,16	0,05266	-1,31	0,00259
Lyc2	lysozyme C type 2	-1,05	0,60347	-1,02	0,81780	-1,31	0,02050
Isg20	interferon stimulated exonuclease gene 20	-1,43	0,00076	-1,16	0,26244	-1,31	0,02578
Tpm1	tropomyosin 1, alpha	-1,48	0,00068	-1,09	0,29076	-1,31	0,00858
Fntb	farnesyltransferase, CAAX box, beta	-1,46	0,00336	-1,22	0,05995	-1,31	0,00597
Lactb2	lactamase, beta 2	-1,40	0,00286	-1,22	0,01086	-1,31	0,00001
Asap2	ArfGAP with SH3 domain, ankyrin repeat and PH domain 2	-1,69	0,00021	-1,05	0,50721	-1,31	0,01390
Pgrmc2	progesterone receptor membrane component 2	1,03	0,78744	-1,11	0,40684	-1,31	0,02208
Igip	IgA-inducing protein	-1,36	0,01687	-1,16	0,10329	-1,31	0,00199
Wls	wntless Wnt ligand secretion mediator	-1,36	0,00103	-1,34	0,00002	-1,31	0,00413
Prr13	proline rich 13	-1,13	0,07714	-1,16	0,01535	-1,31	0,00848
Hilpda	hypoxia inducible lipid droplet-associated	-1,19	0,04248	-1,11	0,15642	-1,31	0,01374
Angptl2	angiopoietin-like 2	-1,54	0,00577	-1,17	0,16732	-1,31	0,01000
Mir92a1	microRNA 92a-1	-1,13	0,40434	-1,15	0,04964	-1,31	0,01727
Gale	UDP-galactose-4-epimerase	-1,48	0,00268	-1,23	0,05714	-1,31	0,01969
RGD1305537	similar to RIKEN cDNA 3110001I22	-1,12	0,35332	-1,11	0,19261	-1,31	0,00895
Itgb6	integrin, beta 6	-1,26	0,04702	-1,19	0,07357	-1,31	0,01623
Bbip1	BBSome interacting protein 1	-1,39	0,00228	-1,23	0,08333	-1,31	0,03610
Pcdhb6	protocadherin beta 6	1,05	0,63302	-1,12	0,20121	-1,31	0,01275
Il10rb	interleukin 10 receptor, beta	-1,20	0,17874	-1,18	0,21490	-1,31	0,04086
Trip11	thyroid hormone receptor interactor 11	-1,49	0,00040	-1,19	0,00115	-1,31	0,00132
Cd55	CD55 molecule, decay accelerating factor for complement	-1,52	0,00386	-1,32	0,02092	-1,31	0,03439
Slc25a24	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier, phosphate carrier), member 24	-1,41	0,00411	-1,35	0,02020	-1,31	0,00326
RGD1309676	similar to RIKEN cDNA 5730469M10	-1,30	0,00940	-1,16	0,06396	-1,31	0,00148
Edn1	endothelin 1	-1,69	0,00262	-1,18	0,22853	-1,31	0,04526
Clcn6	chloride channel, voltage-sensitive 6	-1,26	0,01299	-1,12	0,16444	-1,31	0,01061